

Europäisches **Patentamt** 

European **Patent Office**  Office européen des brevets

REC'D 26 OCT 2004

.PCT WIPO

Bescheinigung

Certificate

**Attestation** 

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten europäischen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the European patent application conformes à la version described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont initialement déposée de la demande de brevet européen spécifiée à la page suivante.

Patentanmeldung Nr.

Patent application No. Demande de brevet nº

03090324.9

## PRIORITY

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

> Der Präsident des Europäischen Patentamts; Im Auftrag

For the President of the European Patent Office Le Président de l'Office européen des brevets p.o.

R C van Dijk

BEST AVAILABLE COPY



		Anmeldetag:		•	
Anmeldung Nr:		00 00 00	30 00 03		
Application no.:	03090324.9		30.09.03		
Demande no:		Date de dépôt:			

Anmelder/Applicant(s)/Demandeur(s):

Bayer CropScience GmbH Brüningstrasse 50 65929 Frankfurt/Main ALLEMAGNE

Bezeichnung der Erfindung/Title of the invention/Titre de l'invention: (Falls die Bezeichnung der Erfindung nicht angegeben ist, siehe Beschreibung. If no title is shown please refer to the description. Si aucun titre n'est indiqué se referer à la description.)

Pflanzen mit erhöhter aktivität eines verzweigungsenzyms klasse 3

In Anspruch genommene Prioriät(en) / Priority(ies) claimed /Priorité(s) revendiquée(s)
Staat/Tag/Aktenzeichen/State/Date/File no./Pays/Date/Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation/International Patent Classification/Classification internationale des brevets:

A01H/

Am Anmeldetag benannte Vertragstaaten/Contracting states designated at date of filing/Etats contractants désignées lors du dépôt:

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR LI

BCS 03-5005

Bayer CropScience GmbH

## Pflanzen mit erhöhter Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3

## Beschreibung

5

10

15

20

Die vorliegende Erfindung betrifft Pflanzenzellen und Pflanzen, die genetisch modifiziert sind, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines pflanzlichen Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen führt. Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Mittel und Verfahren zur Herstellung solcher Pflanzenzellen und Pflanzen. Derartige Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisieren eine modifizierte Stärke. Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die von den erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisierte Stärke sowie Verfahren zur Herstellung dieser Stärke, als auch die Herstellung von Stärkederivaten dieser modifizierten Stärke.

Im Hinblick auf die zunehmende Bedeutung, die pflanzlichen Inhaltsstoffen als erneuerbaren Rohstoffquellen zur Zeit beigemessen wird, ist es eine der Aufgaben der biotechnologischen Forschung, sich um eine Anpassung dieser pflanzlichen Rohstoffe an die Anforderungen der verarbeitenden Industrie zu bemühen. Um eine Anwendung von nachwachsenden Rohstoffen in möglichst vielen Einsatzgebieten zu ermöglichen, ist es darüber hinaus erforderlich, eine große Stoffvielfalt zu erreichen.

Das Polysaccharid Stärke ist aus chemisch einheitlichen Grundbausteinen, den Glucosemolekülen, aufgebaut, stellt jedoch ein komplexes Gemisch unterschiedlicher Molekülformen dar, die Unterschiede hinsichtlich des Polymerisations- und des Verzweigungsgrades aufweisen und sich somit in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften stark voneinander unterscheiden. Man differenziert zwischen Amylosestärke, einem im wesentlichen unverzweigten Polymer aus α-1,4-glycosidisch verknüpften Glucoseeinheiten, und der Amylopektinstärke, einem verzweigten Polymer,

r.

bei dem die Verzweigungen durch das Auftreten zusätzlicher  $\alpha$ -1,6-glycosidischer Verknüpfungen zustande kommen. Ein weiterer wesentlicher Unterschied zwischen Amylose und Amylopektin liegt im Molekulargewicht. Während Amylose, je nach Herkunft der Stärke, ein Molekulargewicht von  $5x10^5-10^6$  Da besitzt, liegt das des Amylopektins zwischen  $10^7$  und  $10^8$  Da. Die beiden Makromoleküle können durch ihr Molekulargewicht und ihre unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften differenziert werden, was am einfachsten durch ihre unterschiedlichen Jodbindungseigenschaften sichtbar gemacht werden kann.

10 Amylose wurde lange als lineares Polymer, bestehend aus α-1,4-glycosidisch verknüpften α-D-Glucose-Monomeren, angesehen. In neueren Studien wurde jedoch die Anwesenheit von α-1,6-glycosidischen Verzweigungspunkten (ca. 0,1%) nachgewiesen (Hizukuri und Takagi, Carbohydr. Res. 134, (1984), 1-10; Takeda et al., Carbohydr. Res. 132, (1984), 83-92).

15

20

25

30

Das Amylopektin stellt ein komplexes Gemisch aus unterschiedlich verzweigten Glucoseketten dar. Im Gegensatz zur Amylose ist das Amylopektin stärker verzweigt. Nach Lehrbuchangaben (Voet and Voet, Biochemistry, John Wiley & Sons, 1990) treten die  $\alpha$ -1,6-Verzweigungen durchschnittlich alle 24 bis 30 Glucosereste auf. Dies entspricht einem Verzweigungsgrad von ca. 3% - 4%. Die Angaben zum Verzweigungsgrad sind variabel und abhängig von der Herkunft (z.B. Pflanzenspezies, Pflanzensorte usw.) der jeweiligen Stärke. In typischen für die industrielle Stärkeproduktion verwendeten Pflanzen, wie z.B. Mais, Weizen oder Kartoffel, besteht die synthetisierte Stärke zu ca. 20% - 30% aus Amylose-Stärke und zu ca. 70% - 80% aus Amylopektin-Stärke.

Die funktionellen Eigenschaften der Stärke werden neben dem Amylose/Amylopektin-Verhältnis und dem Phosphatgehalt stark beeinflußt durch das Molekulargewicht, das Muster der Seitenkettenverteilung, den Gehalt an Ionen, den Lipid- und Proteingehalt, die mittlere Stärkekorngröße sowie die Stärkekornmorphologie etc. Als wichtige funktionelle Eigenschaften sind hierbei beispielsweise zu nennen die Löslichkeit, das Retrogradationsverhalten, das Wasserbindevermögen, die Filmbildungseigenschaften,

die Viskosität, die Verkleisterungseigenschaften, die Gefrier-Tau-Stabilität, die Säurestabilität, die Gelfestigkeit etc.. Auch die Stärkekorngröße kann für verschiedene Anwendungen von Bedeutung sein.

Verzweigungsenzyme, die auch mit der Bezeichnung "BE" (von Branching Enzyme; E.C. 2.4.1.18) abgekürzt werden, katalysieren die Einführung von  $\alpha$ -1,6-Verzweigungen in  $\alpha$ -1,4-Glukane. Verzweigungsenzyme und die sie codierenden Nuclein- bzw. Aminosäuresequenzen sind aus unterschiedlichsten Organismen, wie z.B. Bakterien, mikrobiellen Pilzen, Säugetieren, Algen und höheren Pflanzen bekannt. Da nur Pflanzen Stärke synthetisieren, 10 während die vorgenannten nicht-pflanzlichen Organismen (z.B. Bakterien, Pilze und Säugetiere) Glycogen synthetisieren, können die betreffenden Verzweigungsenzyme, die an der Synthese des jeweiligen Polymers beteiligt auch in Glycogen-Verzweigungsenzyme Verzweigungsenzyme unterteilt werden. Bei den Pflanzen handelt es sich daher um Stärke-Verzweigungsenzyme, die insbesondere in älterer Literatur häufig auch als Q-15 Enzyme bezeichnet werden.

In allen Pflanzenspezies, die bisher untersucht wurden, können die beschriebenen Verzweigungsenzyme zwei unterschiedlichen Klassen zugeordnet werden (Burton et al., 1995, Plant Journal 7, 3-15; Mizuno et al., 2001, Plant Cell Physiol. 42(4), 349-357). Die Zuordnung zu diesen Klassen, teilweise in der Literatur mit A bzw. 2, und B bzw. 1 bezeichnet, beruht auf dem Vergleich von abgeleiteten Proteinsequenzen.

20

25

30

Da in der Vergangenheit unterschiedliche Nomenklaturen zur Bezeichnung und Klassifizierung von Verzweigungsenzymen verwendet wurden, haben Smith-White und Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) zur Vereinheitlichung dieser Nomenklatur ein System vorgeschlagen, wobeiin welchem die Zuordnung zu den beiden Klassen von pflanzlichen Verzweigungsenzymen auch auf dem Vergleich von abgeleiteten Proteinsequenzen beruht (Larsson et al., 1998, Plant Mol. Biol. 37, 505-511). Diejenigen pflanzlichen Verzweigungsenzyme, deren Aminosäuresequenz einen höheren Grad an Identität mit derjenigen des Verzweigungsenzyms I aus Mais (GenBank Acc: D11081) aufweisen, sollen nach dieser Nomenklatur als

Verzweigungsenzyme, deren sie codierende Aminosäuresequenz einen höheren Grad an Identität mit derjenigen des Verzweigungsenzyms II aus Mais (GenBank Acc: AF072725) aufweisen, sollen als Verzweigungsenzym der Klasse 2 bezeichnet werden. Die Bezeichnung der Genprodukte codierend für Verzweigungsenzyme soll nach der Nomenklatur von Smith-White und Preiss als Erweiterung in die bereits bestehende Nomenklatur mittels E.C. Nummern aufgenommen werden. Für die beiden Klassen ergeben sich somit sogenannte GPN (Gen Produkt Nummer) Codes und zwar GPN 2.2.4.1.18:1 für Verzweigungsenzyme der Klasse 1 und GPN 2.2.4.18:2 für Verzweigungsenzyme der Klasse 2.

5

10

25

30

Die folgenden pflanzlichen- oder Stärke-Verzweigungsenzyme gehören daher, nach der von Smith-White und Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) vorgeschlagenen Nomenklatur zur Klasse 1 (GPN 2.2.1.18:1):

BE I aus Aegilops tauschii (GenBank Acc: AF525746), BE I aus Gerste (GenBank Acc: AY304541), BE aus Tapioka (GenBank Acc: X77012), BE I (häufig auch als BE 1 bezeichnet) aus Reis (GenBank Acc: D11082, D10752, D10838), BE 3 aus Bohne (GenBank Acc: AB029549), BE II aus Erbse (GenBank Acc: X80010), BE aus Hirse (GenBank Acc: AF169833), BE I aus Kartoffel (GenBank Acc: Y08786, X69805), BE aus Weizen (GenBank Acc: Y12320, AF076679, AF002820) und BE I aus Mais (GenBank Acc: D11081, AAO20100, E03435, AY176762, U17897, AF072724).

Dabei weisen die für verschiedene Verzweigungsenzyme der Klasse 1 codierenden Aminosäuresequenzen zu der Aminosäuresequenz des Verzweigungsenzyms I aus Mais (GenBank Acc: D11081) jeweils eine Identität von mehr als 60% auf.

Verzweigungsenzyme, die nach der von Smith-White and Preiss (1994, Plant Molecular Biology Reporter 12, 67-71) vorgeschlagenen Nomenklatur zur Klasse 2 (GPN 2.2.1.18:2) gehören, sind z.B. BE IIa aus Aegilops tauschii (GenBank Acc: AF338431, WO 9914314), BE2-1 und BE2-2 aus Arabidosis thaliana (BE2-1 GenBank Acc: NM\_129196 CAA04134; BE2-2 GenBank Acc: CAB82930, NM\_120446), BE IIa und BE IIb aus Gerste (BE IIa GenBank Acc: AF064560; BE IIb GenBank Acc: AF064561), BE III aus Süßkartoffel (GenBank Acc: AB071286), BE III und BE IV (häufig auch als BE 3

bzw. BE 4 bezeichnet) aus Reis (BE III GenBank Acc: D16201; BE IV GenBank Acc: AB023498), BE 1 aus Bohne (GenBank Acc: AB029548), BE I aus Erbse (GenBank Acc: X80009), BE IIb aus Hirse (GenBank Acc: AY304540), BE II aus Kartoffel (GenBank Acc: AJ000004, AJ011885, AJ011888, AJ011889, AJ011890), BE II bzw. BE IIa aus Weizen (GenBank Acc: Y11282, AF286319, AF338432, U66376) und BE II, bzw. BE IIb aus Mais (BE II GenBank Acc: AAA18571, T02981; BE IIb GenBank Acc: AF072725, L08065). Dabei weisen die für verschiedene Verzweigungsenzyme der Klasse 2 codierenden Aminosäuresequenzen zu der Aminosäuresequenz des Verzweigungsenzyms IIb aus Mais (GenBank Acc: AF072725) jeweils eine Identität von mehr als 60% auf.

Pflanzliche- oder Stärke-Verzweigungsenzyme gehören zur Familie der alphaamylolytischen Enzyme (Svensson, 1994, Plant Molecular Biology 25, 141-157; Jespersen et al., 1991, Biochem J. 280, 51-55) und weisen bezüglich ihrer Aminosäuresequenz vier konservierte Domänen auf (Baba et al., 1991, Biochem. Biophys. Res. Commun. 181(1), 87-94; Kuriki et al., 1996, J. of Protein Chemistry 15(3), 305-313).

Auf mathematischen Berechnungen, abgeleitet von experimentellen Daten, wie z.B. Proteinkristallstrukturen, basierende Strukturvorhersagen (Pfam: http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/PFSCAN?) ergeben, dass alle bisher bekannten Verzweigungsenzyme aus höheren Pflanzen zwei Domänen aufweisen: eine Alpha-Amylase-Domäne und eine Iso-Amylase-Domäne. Dabei liegt die Iso-Amylase-Domäne näher am N-Terminus des Proteins, als die Alpha-Amylase Domäne.

25

30

5

10

15

20

Bekannt sind z.B. Pflanzen, die auf Grund einer Mutation eine reduzierte Aktivität eines Verzweigungsenzyms der Klasse 2 aufweisen. Dazu- gehören die sogenannten "amylose extender" (ae) Mutanten aus Mais (Stindard et al., 1993, Plant Cell 5, 1555-1566; Boyer und Preiss, 1978, Biochem. Biophys. Res. Commun. 80, 169-175) und Reis (Mizuno et al., 1993, J. Biol. Chem. 268, 19084-19091), sowie die "rugosus" (r) Mutation in Erbse (Smith, 1988, Planta 175, 270-279; Bhattacharyya et al., 1990, Cell 60, 115-122). Alle diese Mutanten zeichnen sich dadurch aus, dass sie eine Stärke

synthetisieren, die einen erhöhten Anteil an Amylose aufweist im Vergleich zu Stärke aus entsprechenden Pflanzen, die diese Mutation nicht aufweisen.

Ferner sind genetisch modifizierte Kartoffelpflanzen beschrieben, bei welchen die Aktivität eines BE I (Klasse 1) Verzweigungsenzyms (Kossmann et al., 1991, Mol Gen Genet 230, 39-44; Safford et al., 1998, Carbohydrate Polymers 35, 155-168), bzw. die Aktivität eines BEII (Klasse 2) Verzweigungsenzyms (Jobling et al., 1999, The Plant Journal 18), bzw. die Aktivität eines BEI und BEII Verzweigungsenzyms (Schwall et al., 2000, Nature Biotechnology 18, 551- 554, Jobling et al., 2003, Nature Biotechnology 21, 77-80) reduziert sind.

Bisher konnten alle pflanzlichen Verzweigungsenzyme einer der beiden oben beschriebenen Klassen zugeordnet werden. Pflanzenzellen oder Pflanzen, die eine erhöhte Aktivität eines Verzweigungsenzyms aufweisen, welches nicht diesen Klassen zugeordnet werden kann, sind nicht bekannt.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zu Grunde, modifizierte Stärken, neue Pflanzenzellen und/oder Pflanzen, die eine solche modifizierte Stärke synthetisieren, sowie Verfahren zur Erzeugung besagter Pflanzen und/oder Pflanzenzellen zur Verfügung zu stellen.

Diese Aufgabe wird durch die in den Ansprüchen bezeichneten Ausführungsformen gelöst.

25 Somit betrifft die vorliegende Erfindung genetisch modifizierte Pflanzenzellen und Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzenzellen oder Pflanzen eine erhöhte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen aufweisen.

Ein erster Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft eine Pflanzenzelle oder eine Pflanze, die genetisch modifiziert ist, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung

30

5

10

15

20

der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt, im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pfalnzen.

- Die genetische Modifikation kann dabei jede genetische Modifikation sein, die zu einer Erhöhung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen oder Wildtyp-Pflanzen.
- Der Begriff "Wildtyp-Pflanzenzelle" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass es sich um Pflanzenzellen handelt, die als Ausgangsmaterial für die Herstellung der erfindungsgemäßen Pflanzenzellen dienten, d.h. deren genetische Information, abgesehen von der eingeführten genetischen Modifikation, der einer erfindungsgemäßen Pflanzenzelle entspricht.

Der Begriff "Wildtyp-Pflanze" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass es sich um Pflanzen handelt, die als Ausgangsmaterial für die Herstellung der erfindungsgemäßen Pflanzen dienten, d.h. deren genetische Information, abgesehen von der eingeführten genetischen Modifikation, der einer erfindungsgemäßen Pflanze entspricht.

Der Begriff "entsprechend" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass beim Vergleich von mehreren Gegenständen die betreffenden Gegenstände, die miteinander verglichen werden, unter gleichen Bedingungen gehalten wurden. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung bedeutet der Begriff "entsprechend" im Zusammenhang mit Wildtyp-Pflanzenzelle oder Wildtyp-Pflanze, dass die Pflanzenzellen oder Pflanzen, die miteinander verglichen werden, unter gleichen Kulturbedingungen aufgezogen wurden und dass sie ein gleiches (Kultur-) Alter aufweisen.

25

15

20

Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen weisen eine erhöhte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 auf im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen.

Der Begriff "erhöhte Aktivität" bedeutet dabei im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine Erhöhung der Expression endogener Gene, die Verzweigungsenzyme Klasse 3 codieren und/oder eine Erhöhung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 Protein in den Zellen und/oder eine Erhöhung der enzymatischen Aktivität von Verzweigungsenzymen Klasse 3 in den Zellen.

10

15

20

25

30

Die Erhöhung der Expression kann beispielsweise bestimmt werden durch Messung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Transkripten, z.B. durch Northern-Blot-Analyse oder RT-PCR. Eine Erhöhung bedeutet dabei vorzugsweise eine Erhöhung der Menge an Transkripten im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Zellen um mindestens 50%, insbesondere um mindestens 70%, bevorzugt um mindestens 85% und besonders bevorzugt um mindestens 100%.

Die Erhöhung der Menge an Protein eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, die eine erhöhte Aktivität dieser Proteine in den betreffenden Pflanzenzellen zur Folge hat, kann beispielsweise bestimmt werden durch immunologische Methoden wie Western-Blot-Analyse, ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) oder RIA (Radio Immune Assay). Eine Erhöhung bedeutet dabei vorzugsweise eine Erhöhung der Menge an Verzweigungsenzym Klasse 3 Protein im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Zellen um mindestens 50%, insbesondere um mindestens 70%, bevorzugt um mindestens 85% und besonders bevorzugt um mindestens 100%.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird unter dem Begriff "Verzweigungsenzym"" ( $\alpha$ -1,4-Glukan:  $\alpha$ -1,4-Glukan 6-Glycosyltransferase, E.C. 2.4.1.18) ein Protein verstanden, das eine Transglycosylierungsreaktion katalysiert, in der  $\alpha$ -1,4-Verknüpfungen eines  $\alpha$ -1,4-Glukandonors hydrolysiert und die dabei freigesetzten  $\alpha$ -1,4-Glukanketten auf eine  $\alpha$ -1,4-Glukanakzeptorkette transferiert und dabei in  $\alpha$ -1,6-Verknüpfungen überführt werden. Insbesondere soll im Rahmen der vorliegenden

Erfindung unter dem Begriff "Verzweigungsezym" ein pflanzliches Verzweigungsenzym, d.h. ein Stärke-Verzweigungsenzym verstanden werden.

Nachgewiesen werden kann die Aktivität eines Verzweigungsenzyms z.B. mit Hilfe der nativen Acrylamidgelelektrophorese. Dabei werden Proteine zunächst elektrophoretisch aufgetrennt und die entsprechenden Gele nach Inkubation in Puffern, enthaltend eine lineare α-1,4-Glukan Ketten synthetisierende Aktivität (z.B. Stärkephosphorylase a) und deren Substrat (z.B. Glukose-6-Phosphat), mit Jod gefärbt (Kimihiko et al., 1980, Analytical Biochemistry 108, 16-24).

Weiterhin können Verzweigungsenzyme in mikrobiellen Organismen, wie z.B. dem *E. coli* Stamm KV832 (Kiel et al., 1987 Mol. Gen. Genet 207: 294-301), die keine verzweigten α-Glukane synthetisieren, exprimiert werden. Wird durch die Expression eines fremden Gens in solchen Stämmen (z.B. *E. coli* KV832) eine Aktivität eines Verzweigungsenzyms in den mikrobiellen Organismus eingeführt, so kann die Verzweigungsenzymaktivität z.B. durch Bedampfung von Kolonien dieser Organismen mit Jod nachgewiesen werden. Kolonien, die lineare α-1,4-Glukane synthetisieren, färben in diesem Nachweis blau, während Kolonien, welche durch Expression einer zusätzlichen enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms verzweigte Glukane synthetisieren, nach Bedampfung mit Jod rötlich braun färben. Auch die Expression von Proteinen in Phosphoglucomutasemutanten von *E. coli* ist zur Identifizierung einer Verzweigungsenzymaktivität von entsprechenden Proteinen möglich (Buettcher et al., 1999, Biochem. Biophys. Acta 1432, 406-412).

Eine weitere Möglichkeit, Verzweigunsenzymaktivität von Proteinen nachzuweisen, ist die Verwendung einer Phosphorylase a stimulierten Reaktion und die anschließende Auftrennung der Produkte mittes Dünnschichtchromatographie (Almstrupp et al., 2000, Analytical Biochemistry 286, 297-300).

Ebenfalls nachgewiesen werden können Verzweigungsenzymaktivitäten mit Hilfe der bei Guan und Preiss (1993, Plant Physiol. 102. 1269- 1273) und Kuriki et al. (1996, J. of Protein Chemistry 15, 305-313) beschriebenen Methoden.

Unter dem Begriff "Verzweigungsenzym Klasse 3" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Verzweigungsenzym verstanden werden, das mit der in Seq

25

5

ID No-4-angegebenen Aminosäuresequenz einen höheren Grad-an Identität aufweist, als mit der des Verzweigungsenzyms BE I aus Mais (GenBank Acc: D11081) oder mit der des Verzweigungsenzyms BE IIb aus Mais (GenBank Acc: AF072725). Vorzugsweise stammt das Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum.

5

10

15

25

30

In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weisen Aminosäuresequenzen codierend Verzweigungsenzyme der Klasse 3 eine Identität mit der in SEQ ID No 4 angegebenen Sequenz von mindestens 60%, insbesondere von mindestens 70%, bevorzugt von mindestens 80% und besonders bevorzugt von mindestens 90% und insbesondere bevorzugt von mindestens 95% auf.

Verzweigungsenzyme der Klasse 3 weisen erfindungsgemäß eine Iso-Amylase-Domäne (Pfam acc.: Pf02922) und eine Alpha-Amylase-Domäne (Pfam acc: Pf00128) auf. Erfindungsgemäß sind die Iso-Amylase Domäne und die Alpha-Amylase Domäne in Verzweigungsenzyme codierenden Aminosäuresequenzen durch das Vorhandensein weiterer Aminosäuren, die diesen beiden Domänen nicht zugehören, voneinander getrennt.

20 Erfindungsgemäße Verzweigungsenzyme Klasse 3 zeichnen sich dadurch aus, dass die Iso-Amylase Domäne von der Alpha-Amylase Domäne durch eine größere Anzahl an Aminosäuren voneinander getrennt ist, als die Iso-Amylase Domäne und die Alpha-Amylase Domäne von Verzweigungsenzymen der Klassen 1 und 2.

Erfindungsgemäße Verzweigungsenzyme Klasse 3 zeichnen sich bezüglich ihrer Aminosäuresequenz bevorzugt dadurch aus, dass sie zwischen der Iso-Amylase Domäne und der Alpha-Amylase Domäne mindestens 70, bevorzugt mindestens 100, besonders bevorzugt mindestens 130 und insbesondere bevorzugt mindestens 198 Aminosäuren aufweisen. In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das C-terminale Ende der Iso-Amylase Domäne vom N-terminalen Anfang der Alpha-Amylase Domäne bei der für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Aminosäuresequenz durch 70 bis 198, bevorzugt durch 100 bis 198, besonders

bevorzugt durch 130-bis-198-und insbesondere besonders bevorzugt-durch 150-bis 198
Aminosäuren voneinander getrennt.

Mit Hilfe der Pfam-Datenbank (Batemann et al., 2002, Nucleic Acids Research 30, 276-280; 5 erreichbar über http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/. http://www.cgb.ki.se/Pfam/; http://pfam.jouy.inra.fr/ oder http://pfam.wustl.edu/) ist es dem Fachmann möglich, zu ermitteln, ob Aminosäuresequenzen bereits bekannte Domänen (z.B. eine Iso-Amylase und/oder eine Alpha-Amylase Domäne) aufweisen. Pfam ist eine von Experten zusammengestellte Datenbank, die Aminosäuresequenzen in sogenannte Familien einteilt. Die Zuordnung einer Aminosäuresequenz zu einer 10 Familie erfolgt dabei auf Basis von sogenannten Domänen, die als funktionelle und strukturelle Bausteine von Proteinen anzusehen sind. Eine Domäne ist definiert als strukturelle Einheit oder mehrfach auftretende Aminosäuresequenz-Einheit, die ins Proteinen unterschiedlichster Funktion vorkommen kann. Neben Informationen betreffend die Aminosäuresequenz bekannter Proteine werden auch weitere 15 Erkenntnisse (z.B. Nachweis der enzymatischen Aktivität, Kristallstrukturdaten) für die Zuordnung eines Proteins zu einer Familie herangezogen. Jeder Familie wird ein Name und eine "accession" Nummer (z.B. Name: Isoamylase\_N, acc:PF02922) zugewiesen. Bestandteil jeder Familie in der Pfam-Datenbank ist u.a. ein sogenanntes "seed 20 alignment". Das .seed alignment" enthält die Aminosäuresequenzen repräsentativen Proteinen einer Familie. Ausgehend von "seed alignments" wird ein sogenanntes Profil HMM ("profile Hidden Markov Model"; Übersichtsartikel in: Durbin et al., "Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids", Cambridge University Press, 1998, ISBN 0-521-62041-4 ) durch Verwendung der HMMER 2 Software (frei erhältlich unter http://hmmer.wustl.edu/) erzeugt. Die 25 erzeugten HMMs haben Namen und sind spezifisch für die entsprechend zugeordneten Domänen in der Pfam-Datenbank abgelegt. HMMs beruhen im Gegensatz zu klassischen, multiplen "alignments" (z.B. hergestellt mit dem Program Clustal W oder dem Algorhytmus Blossum62) auf einer validen statistischen Theorie (Bayes-Theorie der bedingten Wahrscheinlichkeit, Markoff-Ketten) und ermöglichen die Zuordnung 30 einer Abfrage Sequenz (Query) zu einer Familie basierend auf der Verwendung von positionsspezifischen Bewertungsmatrizen. Dieses ermöglicht eine Zuordnung auch

dann, wenn erhebliche Unterschiede in den Aminosäuresequenzen zwischen Abfrage-Sequenz (Query) und einer Vergleichs-Sequenz (z.B. Aminosäuresequenzeintrag in einer Datenbank) vorliegen.

- Mittels eines Vergleiches der in der Pfam-Datenbank gespeicherten HMMs mit Aminosäuresequenzen, die als sogenannte Abfrage-Sequenz (Query) eingegeben werden, kann somit die Domänen Struktur der betreffenden Aminosäuresequenz ermittelt werden (z.B. unter: http://hits.isb-sib.ch/cgi-bin/PFSCAN?).
- Unter dem Begriff "Iso-Amylase-Domäne" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden 10 Erfindung eine Pfam Iso-Amylase-Domäne (acc: Pf02922) verstanden werden. Dabei ist das diese Pfam Iso-Amylase-Domäne beschreibende HMM mit der Software HMMER 2 [2.3.1], ausgehend von einem "seed alignment", das die in Tabelle 1 dargestellten Aminosäureseguenzen enthält, zu erzeugen. Das "seed alignment" wird im Programs ClustalW Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung mittels des 15 (Thompson et al., Nucleic Acids Research 22 (1994), 4673-4680; siehe unten) erzeugt. Zur Erstellung des entsprechenden HMMs sind folgende Einstellungen zu wählen: Build Method of HMM: hmmbuild -F HMM\_Is, hmmcalibrate -seed 0 HMM\_Is; Gathering cutoff: 2.3 2.3; Trusted cutoff: 2.3 2.2; Noise cutoff: 2.1 2.1). Weitere Angaben zur Erstellung des HMMs der Pfam Iso-Amylase-Domäne (acc: Pf02922) sind in Tabelle 3 20 dargestellt.
  - Unter dem Begriff "Alpha-Amylase-Domäne" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Pfam Alpha-Amylase-Domäne (acc: Pf00128), verstanden werden. Dabei ist das diese Pfam Alpha-Amylase-Domäne beschreibende HMM mit der Software HMMER 2 [2.3.1], ausgehend von einem "seed alignment", das die in Tabelle 2 dargestellten Aminosäuresequenzen enthält, zu erzeugen. Das "seed alignment" wird dabei mittels HMM\_simulated\_annealing (http://www.psc.edu/general/software/packages/hmmer/manual/node11.html#SECTION 003210000000000000000) erzeugt. Zur Erstellung des entsprechenden HMM sind folgende Einstellungen zu wählen: Build Method of HMM: hmmbuild –F HMM\_ls, hmmcalibrate –seed 0 HMM\_ls; Gathering cutoff: -82.0 –82.0; Trusted cutoff: -81.7 –

25

30

81.7; Noise cutoff: -82.7 -82.7). Weitere Angaben zur Erstellung des HMMs der Pfam Alpha-Amylase-Domäne (acc: Pf00128) sind in Tabelle 4 dargestellt.

- Unter dem Begriff "Verzweigungsenzym Klasse 3 Gen" soll im Zusammenhang mit der 5 vorliegenden Erfindung ein Nucleinsäuremolekül (cDNA, DNA) verstanden werden, das ein Verzweigungsenzym Klasse 3, vorzugsweise ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum, codiert.
- 10. Eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft erfindungsgemäße genetisch modifizierte Pflanzenzelle oder eine erfindungsgemäße genetisch modifizierte Pflanze, wobei die genetische Modifikation in der Einführung mindestens eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanzenzelle bzw. in das Genom der Pflanze besteht.

15

20

In diesem Zusammenhang bedeutet der Begriff "genetische Modifikation" das Einführen von homologen und/oder heterologen fremden Nucleinsäuremolekülen in das Genom einer Pflanzenzelle oder in das Genom einer Pflanze, wobei besagtes Einführen dieser Moleküle zur Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.

- Durch Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls sind die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen in ihrer genetischen Information verändert. Das Vorhandensein oder die Expression des fremden Nucleinsäuremoleküls führt zu einer phänotypischen Veränderung. "Phänotypische" Veränderung bedeutet dabei vorzugsweise eine meßbare Veränderung einer oder mehrerer Funktionen der 25 Zellen. Beispielsweise zeigen die genetisch modifizierten erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die genetisch modifizierten erfindungsgemäßen Pflanzen aufgrund des Vorhandenseins oder bei Expression des eingeführten Nucleinsäuremoleküls eine Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3.
- Unter dem Begriff "fremdes Nukleinsäuremolekül" versteht man im Zusammenhang mit 30 der vorliegenden Erfindung ein solches Molekül, das entweder natürlicherweise in entsprechenden Wildtyp-Pflanzenzellen nicht vorkommt, oder das in der konkreten

räumlichen Anordnung nicht natürlicherweise in Wildtyp-Pflanzenzellen vorkommt oder das an einem Ort im Genom der Wildtyp-Pflanzenzelle lokalisiert ist, an dem es natürlicherweise nicht vorkommt. Bevorzugt ist das fremde Nukleinsäuremolekül ein rekombinantes Molekül, das aus verschiedenen Elementen besteht, deren Kombination oder spezifische räumliche Anordnung natürlicherweise in pflanzlichen Zellen nicht auftritt.

Prinzipiell kann das fremde Nucleinsäuremolekül jedes beliebige Nucleinsäuremolekül sein, das in der Pflanzenzelle oder Pflanze eine Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 bewirkt.

10

5

Unter dem Begriff "Genom" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung die Gesamtheit des in einer pflanzlichen Zelle vorliegenden Erbmaterials verstanden werden. Dem Fachmann ist bekannt, dass neben dem Zellkern auch andere Kompartimente (z.B. Plastiden, Mitochondrien) Erbmaterial enthalten.

15

20

25

30

In einer weiteren Ausführungsform sind die erfindungsgemäßen Pflanzezellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen dadurch gekennzeichnet, dass das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert, bevorzugt ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus stärkespeichernden Pflanzen, besonders bevorzugt aus Pflanzen einer Spezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform codiert das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 mit der in SEQ ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz.

Für die Einführung von DNA in eine pflanzliche Wirtszelle stehen eine Vielzahl von Techniken zur Verfügung. Diese Techniken umfassen die Transformation pflanzlicher Zellen mit T-DNA unter Verwendung von Agrobacterium tumefaciens oder Agrobacterium rhizogenes als Transformationsmittel, die Fusion von Protoplasten, die Injektion, die Elektroporation von DNA, die Einbringung der DNA mittels des biolistischen Ansatzes sowie weitere Möglichkeiten.

Die Verwendung der Agrobakterien-vermittelten Transformation von Pflanzenzellen ist intensiv untersucht und ausreichend in EP 120516; Hoekema, IN: The Binary Plant Vector System Offsetdrukkerij Kanters B.V., Alblasserdam (1985), Chapter V; Fraley et al., Crit. Rev. Plant Sci. 4, 1-46 und bei An et al. EMBO J. 4, (1985), 277-287 beschrieben worden. Für die Transformation von Kartoffel, siehe z.B. Rocha-Sosa et al., EMBO J. 8, (1989), 29-33.).

5

10

15

20

25

30

Auch Transformation monokotyler Pflanzen mittels auf Agrobakterium ' Transformation basierender Vektoren wurde beschrieben (Chan et al., Plant Mol. Biol. 22, (1993), 491-506; Hiei et al., Plant J. 6, (1994) 271-282; Deng et al, Science in China 33, (1990), 28-34; Wilmink et al., Plant Cell Reports 11, (1992), 76-80; May et al., Bio/Technology 13, (1995), 486-492; Conner und Domisse, Int. J. Plant Sci. 153 (1992), 550-555; Ritchie et al, Transgenic Res. 2, (1993), 252-265). Alternatives System zur Transformation von monokotylen Pflanzen ist die Transformation mittels des biolistischen Ansatzes (Wan und Lemaux, Plant Physiol. 104, (1994), 37-48; Vasil et al., is Bio/Technology 11 (1993), 1553-1558; Ritala et al., Plant Mol. Biol. 24, (1994), 317-325; Spencer et al., Theor. Appl. Genet. 79, (1990),625-631). die Protoplastentransformation, die Elektroporation von partiell permeabilisierten Zellen, die Einbringung von DNA mittels Glasfasern, Insbesondere die Transformation von Mais wird in der Literatur mehrfach beschrieben (vgl. z. B. WO95/06128, EP0513849, EP0465875, EP0292435; Fromm et al., Biotechnology 8, (1990), 833-844; Gordon-Kamm et al., Plant Cell 2, (1990), 603-618; Koziel et al., Biotechnology 11 (1993), 194-200; Moroc et al., Theor. Appl. Genet. 80, (1990), 721-726).

Auch die erfolgreiche Transformation anderer Getreidearten wurde bereits beschrieben, z.B. für Gerste (Wan und Lemaux, s.o.; Ritala et al., s.o.; Krens et al., Nature 296, (1982), 72-74) und für Weizen (Nehra et al., Plant J. 5, (1994), 285-297). Alle vorstehenden Methoden sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung geeignet.

Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen lassen sich von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen unter anderem dadurch unterscheiden, dass sie ein fremdes Nucleinsäuremolekül enthalten, das natürlicherweise in Wildtyp-Planzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt oder

5

10

15

20

25

30

erfindungsgemäßen

Pflanzen

ein

insbesondere durch eine Western-Blot-Analyse nachgewiesen werden.

Protein.

Nucleinsäuremolekül codiert wird. Dies kann z. B. durch immunologische Methoden,

das

durch

ein

eingeführtes

dadurch, dass ein solches Molekül an einem Ort im Genom der erfindungsgemäßen --Pflanzenzelle oder im Genom-der-erfindungsgemäßen Pflanze integriert vorliegt; andem es bei Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt, d.h. in einer anderen genomischen Umgebung. Ferner lassen sich derartige erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen dadurch unterscheiden, dass sie mindestens eine Kopie des fremden Nucleinsäuremoleküls stabil integriert in ihr Genom enthalten, gegebenenfalls zusätzlich natürlicherweise in den Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen zu vorkommenden Kopien eines solchen Moleküls. Handelt es sich bei dem (den) in die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen eingeführten fremden Nucleinsäuremolekül(en) um zusätzliche Kopien zu bereits natürlicherweise in den Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen vorkommenden Molekülen, so lassen sich die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen insbesondere dadurch unterscheiden, dass diese zusätzliche(n) Kopie(n) an Orten im Genom lokalisiert ist (sind), an denen sie bei Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht vorkommt (vorkommen). Dies läßt sich beispielsweise mit Hilfe einer Southern Blot-Analyse nachprüfen. Weiterhin lassen sich die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen vorzugsweise durch mindestens eines der folgenden Merkmale unterscheiden: Ist das eingeführte fremde Nucleinsäuremolekül heterolog in Bezug auf die Pflanzenzelle oder Pflanze, so weisen die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen Transkripte der eingeführten Nucleinsäuremoleküle auf. Diese lassen sich z. B. durch Northern-Blot-Analyse oder durch RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) nachweisen. Erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, die ein Antisense- und/oder ein RNAi-Transkript exprimieren, können z.B. mit Hilfe von spezifischen Nucleinsäure-Sonden, die komplementär zur der für das Protein codierenden (natürlich in der Pflanzenzelle vorkommenden) RNA sind, nachgewiesen werden. Vorzugsweise enthalten die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die Ist das eingeführte fremde Nucleinsäuremolekül homolog in Bezug auf die Pflanzenzelle oder Pflanze, können die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen von Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen beispielsweise aufgrund der zusätzlichen Expression der eingeführten fremden Nucleinsäuremoleküle unterschieden werden. Die erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und die erfindungsgemäßen Pflanzen enthalten vorzugsweise (sense und/oder antisense) Transkripte der fremden Nucleinsäuremoleküle. Dies kann z. B. durch Northern Blot Analyse oder mit Hilfe der sogenannten quantitativen PCR nachgewiesen werden.

10

30

5

In einer speziellen Ausführungsform handelt es sich bei den erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und bei den erfindungsgemäßen Pflanzen um transgene Pflanzenzellen bzw. transgene Pflanzen.

- In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
  - a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
  - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
  - e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;

- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c); d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.

5

25

30

Die in SEQ ID NO 4 angegebene Aminosäuresequenz codiert ein Protein mit der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum.

Ein Plasmid wurde nach dem Budapester Vertrag hinterlegt am 15. September 2003 10 unter der Nummer DSM 15926 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland. Die in SEQ ID NO4 dargestellte Aminosäuresequenz kann von der codierenden Region der in Plasmid DSM 15926 integrierten cDNA Sequenz abgeleitet werden und codiert für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Solanum tuberosum. Die vorliegende Erfindung 15 betrifft Nucleinsäuremoleküle, die ein Protein mit der enzymatischen Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codieren, das die Aminosäuresequenz umfasst, die von der Insertion in Plasmid DSM 15926 codiert wird, wobei das codierte Protein eine Identität von mindestens 70% bevorzugt von mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und inbesondere bevorzugt von 95% zu der Aminosäuresequenz, 20 die von der ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Insertion in DSM 15926 abgeleitet werden kann, aufweist.

Die von den verschiedenen Varianten der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle codierten Proteine weisen bestimmte gemeinsame Charakteristika auf. Dazu können z.B. biologische Aktivität, Molekulargewicht, immunologische Reaktivität, Konformation, das Vorliegen von strukturellen und/oder funktionellen Domänen etc. gehören, sowie physikalische Eigenschaften wie z.B. das Laufverhalten in Gelelektrophoresen, chromatographisches Verhalten, Sedimentationskoeffizienten, Löslichkeit, spektroskopische Eigenschaften, Stabilität; pH-Optimum, Temperatur-Optimum etc..

Das von der unter SEQ ID NO 4 dargestellten Aminosäuresequenz abgeleitete Molekulargewicht des Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum beträgt ca. 103 kDa. Das abgeleitete Molekulargewicht eines erfindungsgemäßen Proteins liegt daher vorzugsweise im Bereich von 85 kDa bis 120 kDa, bevorzugt im Bereich von 95 kDa bis 110 kDa und besonders bevorzugt bei ca. kDa 100 bis 105 kDa.

Die in SEQ ID No3 dargestellte Nucleinsäuresequenz ist eine cDNA Sequenz, die die codierende Region für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* umfaßt.

10

15

5

Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch Nucleinsäuremoleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und die codierende Region der unter Seq ID NO 3 dargestellten Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen, Nucleinsäuremoleküle, die die codierende Region der Nucleotidsequenz der im Plasmid DSM 15926 enthaltenen Insertion umfassen und Nucleinsäuremoleküle, die zu den genannten Nucleinsäuremolekülen eine Identität von mindestens 70%, bevorzugt von mindestens 80%, besonders bevorzugt von mindestens 90% und insbesondere bevorzugt von mindestens 95% aufweisen.

Mit Hilfe der Sequenzinformation des erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls bzw. mit Hilfe des erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls ist es dem Fachmann nun möglich, homologe Sequenzen aus anderen Pflanzenspezies, vorzugsweise aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, besonders bevorzugt aus Solanum tuberosum zu isolieren. Dies kann beispielsweise mit Hilfe konventioneller Methoden, wie dem Durchmustern von cDNA oder genomischen Banken mit geeigneten Hybridisierungsproben erfolgen. Dem Fachmann ist bekannt, dass die Isolierung homologer Sequenzen auch mit Hilfe von (degenerierten) Oligonukleotiden und der Verwendung von PCR basierten Methoden erflogen kann.

30

Auch die Durchmusterung von Datenbanken wie sie z.B. von EMBL (http://www.ebi.ac.uk/Tools/index.htm) oder NCBI (National Center for Biotechnology

Information, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) zur Verfügung gestellt werden, kann zur Identifizierung von homologen Sequenzen, die für ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren, dienen. Hierbei wird eine oder werden mehrere Sequenzen als sogenannte Abfrage (= query) vorgegeben. Diese Abfragesequenz wird dann mittels statistischen Computerprogrammen mit Sequenzen, die in den ausgewählten Datenbanken enthalten sind, verglichen. Solche Datenbankabfragen (z.B. blast oder fasta searches) sind dem Fachmann bekannt und können bei verschiedenen Anbietern durchgeführt werden.

Wird eine solche Datenbankabfrage z.B. beim NCBI (National Center for Biotechnology Information, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) durchgeführt, so sollen die Standardeinstellungen, die für die jeweilige Vergleichsanfrage vorgegeben sind, benutzt werden. Für Proteinsequenzvergleiche (blastp) sind dieses folgende Einstellungen: Limit entrez = nicht aktiviert; Filter = low compexity aktiviert; Expect value = 10; word size = 3; Matrix = BLOSUM62; Gap costs: Existence = 11, Extension = 1.

Für Nucleinsäuresequenzvergleich (blastn) sind folgende Parameter einzustellen: Limit entrez = nicht aktiviert; Filter = low compexity aktiviert; Expect value = 10; word size = 11.

Bei einer solchen Datenbankrecherche können z.B. die in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Sequenzen als Abfragesequenz (query) verwendet werden, um weitere Nucleinsäuremoleküle und/oder Proteine zu identifizieren, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren.

Mit Hilfe der beschriebenen Methoden ist es auch möglich, erfindungsgemäße Nucleinsäuremoleküle zu identifizieren und/oder zu isolieren, die mit der unter SEQ ID NO: 3 angegebenen Sequenz hybridisieren und die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren.

25

30

5

10

15

20

Der Begriff "Hybridisierung" bedeutet im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine Hybridisierung unter konventionellen Hybridisierungsbedingungen, vorzugsweise unter stringenten Bedingungen, wie sie beispielsweise in Sambrock et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Aufl. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) beschrieben sind. Besonders bevorzugt bedeutet "Hybridisierung" eine Hybridisierung unter den folgenden Bedingungen:

Hybridisierungspuffer: 2xSSC; 10xDenhardt-Lösung (Fikoll 400+PEG+BSA; Verhältnis 1:1:1); 0,1% SDS; 5 mM EDTA; 50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 250 μg/ml Heringssperma DNA; 50 μg/ml tRNA; oder

25 M Natriumphoshphatpuffer pH 7,2; 1 mM EDTA; 7% SDS

5 Hybridisierungstemperatur:

**10** ·

15

20

25

30

T=65 bis 68°C

Waschpuffer:0,2xSSC; 0,1% SDS

Waschtemperatur: T=65 bis 68°C.

Nucleinsäuremoleküle, die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisieren, können prinzipiell aus jeder beliebigen Pflanzenspezies stammen, die ein entsprechendes Protein exprimiert, vorzugsweise stammen sie aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Spezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum. Nucleinsäuremoleküle, die mit den erfindungsgemäßen Molekülen hybridisieren, können z.B. aus genomischen oder aus cDNA-Bibliotheken isoliert werden. Die Identifizierung und Isolierung derartiger Nucleinsäuremoleküle kann dabei unter Verwendung der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle oder Teile dieser Moleküle bzw. der reversen Komplemente dieser Moleküle erfolgen, z.B. mittels Hybridisierung nach Standardverfahren (siehe z.B. Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Aufl. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY) oder durch Amplifikation mittels PCR.

Als Hybridisierungsprobe können z.B. Nucleinsäuremoleküle verwendet werden, die exakt die oder im wesentlichen die unter SEQ ID NO: 3 angegebene Nucleotidsequenz oder Teile dieser Sequenz aufweisen. Bei den als Hybridisierungsprobe verwendeten Fragmenten kann es sich auch um synthetische Fragmente oder Oligonukleotide handeln, die mit Hilfe der gängigen Synthesetechniken hergestellt wurden und deren Sequenz im wesentlichen mit der eines erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküls übereinstimmt. Hat man Gene identifiziert und isoliert, die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuresequenzen hybridisieren, sollte eine Bestimmung der Sequenz und eine Analyse der Eigenschaften der von dieser Sequenz codierten Proteine erfolgen, um festzustellen, ob es sich um ein Verzweigungsenzym Klasse 3 handelt. Hierzu eignen sich insbesondere Homologievergleiche auf der Ebene der Nucleinsäure- oder Aminosäuresequenz sowie die Bestimmung der enzymatischen Aktivität. Die Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 kann z.B. wie oben beschrieben durch Expression

in E. coli Stammen, die selbst kein aktives Verzweigungsenzym exprimieren, erfolgen (Kiel et al., 1987 Mol. Gen. Genet 207: 294-301); Guan et al., 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. 92, 964-967).

Die mit den erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen hybridisierenden Moleküle umfassen insbesondere Fragmente, Derivate und allelische Varianten der oben beschriebenen Nucleinsäuremoleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Pflanzen, vorzugsweise aus stärkespeichernden Pflanzen, bevorzugt aus Pflanzenspezies der Gattung Solanum, insbesondere bevorzugt aus Solanum tuberosum codieren. Der Begriff "Derivat" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Sequenzen dieser Moleküle sich von den Sequenzen der oben beschriebenen Nucleinsäuremoleküle an einer oder mehreren Positionen unterscheiden und einen hohen Grad an Identiät zu diesen Sequenzen aufweisen.

Die Abweichungen zu den oben beschriebenen Nucleinsäuremolekülen können dabei z.B. durch Deletion, Addition, Substitution, Insertion oder Rekombination entstanden sein.

Die von den verschiedenen Derivaten der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle codierten Proteine weisen bestimmte gemeinsame Charakteristika auf. Dazu können z.B. biologische Aktivität, Substratspezifität, Molekulargewicht, immunologische Reaktivität, Konformation, das Vorliegen von strukturellen und/oder funktionellen Domänen etc. gehören, sowie physikalische Eigenschaften wie z.B. das Laufverhalten in Gelelektrophoresen, chromatographisches Verhalten, Sedimentationskoeffizienten, Löslichkeit, spektroskopische Eigenschaften, Stabilität; pH-Optimum, Temperatur-Optimum etc..

25

30

5

10

15

20

Der Begriff "Identität" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Sequenzidentität über die gesamte Länge der codierenden Region von mindestens 60%, insbesondere eine Identität von mindestens 70%, vorzugsweise über 80%, besonders bevorzugt über 90% und insbesondere von mindestens 95%. Unter dem Begriff "Identität" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung die Anzahl der übereinstimmenden Aminosäuren/Nucleotide (Identität) mit anderen Proteinen/Nucleinsäuren, ausgedrückt in Prozent verstanden werden. Bevorzugt wird

.5

15

20

25

30

KTUPLE=2,

TOPDIAGS=4.

GAPEXT=5, MAXDIV=40, TRANSITIONS: unweighted.

die Identität durch Vergleiche der Seq. ID NO 4, oder SEQ ID NO 3 zu anderen Proteinen/Nucleinsäuren mit Hilfe von Computerprogrammen ermittelt. Weisen Sequenzen, die miteinander verglichen werden, unterschiedliche Längen auf, ist die Identität so zu ermitteln, dass die Anzahl an Aminosäuren, welche die kürzere Sequenz mit der längeren Sequenz gemeinsam hat, den prozentualen Anteil der Identität bestimmt. Vorzugsweise wird die Identität mittels der bekannten und der Öffentlichkeit zur Verfügung stehenden Computerprogramms ClustalW (Thompson et al., Nucleic Acids Research 22 (1994), 4673-4680) ermittelt. ClustalW wird öffentich zur Verfügung gestellt von Julie Thompson (Thompson@EMBL-Heidelberg.DE) und Toby Gibson (Gibson@EMBL-Heidelberg.DE), European Molecular Biology Laboratory. Meyerhofstrasse 1, D 69117 Heidelberg, Germany, ClustalW kann ebenfalls von verschiedenen Internetseiten, u.a. beim IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, B.P.163, 67404 Illkirch Cedex, France; ftp://ftp-igbmc.ustrasbg.fr/pub/) und beim EBI (ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/software/) sowie bei allen gespiegelten Internetseiten des EBI (European Bioinformatics Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, UK), heruntergeladen werden. Vorzugsweise wird das ClustalW Computerprogramm der Version 1.8 benutzt, um die Identität zwischen erfindungsgemäßen Proteinen und anderen Proteinen zu bestimmen. Dabei sind folgende Parameter einzustellen: KTUPLE=1, TOPDIAG=5, WINDOW=5, GAPOPEN=10, PAIRGAP=3, GAPEXTEND=0.05, GAPDIST=8. MAXDIV=40. MATRIX=GONNET, ENDGAPS(OFF), NOPGAP, NOHGAP. Vorzugsweise wird das ClustalW Computerprogramm der Version 1.8 benutzt, um die **Identität** zwischen z.B. der Nucleotidsequenz der erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle und der Nucleotidsequenz von anderen Nucleinsäuremolekülen zu bestimmen. Dabei sind folgende Parameter einzustellen:

Identität bedeutet ferner, dass funktionelle und/oder strukturelle Äquivalenz zwischen den betreffenden Nucleinsäuremolekülen oder den durch sie codierten Proteinen, besteht. Bei den Nucleinsäuremolekülen, die homolog zu den oben beschriebenen Molekülen sind und Derivate dieser Moleküle darstellen, handelt es sich in der Regel

PAIRGAP=5,

DNAMATRIX: IUB,

GAPOPEN=10,

um Variationen dieser Moleküle, die Modifikationen darstellen, die dieselbe biologische Funktion ausüben. Es kann sich dabei sowohl um natürlicherweise auftretende Variationen handeln, beispielsweise um Sequenzen aus anderen Pflanzenspezies oder um Mutationen, wobei diese Mutationen auf natürliche Weise aufgetreten sein können oder durch gezielte Mutagenese eingeführt wurden. Ferner kann es sich bei den Variationen um synthetisch hergestellte Sequenzen handeln. Bei den allelischen Varianten kann es sich sowohl um natürlich auftretende Varianten handeln, als auch um synthetisch hergestellte oder durch rekombinante DNA-Techniken erzeugte Varianten. Eine spezielle Form von Derivaten stellen z.B. Nucleinsäuremoleküle dar, die auf Grund Codes erfindungsgemäßen Degeneration des genetischen von der Nucleinsäuremolekülen abweichen.

5

10

15

Die erfindungsgemäßen Nucleinsäuremoleküle können beliebige Nucleinsäuremoleküle sein, insbesondere DNA- oder RNA-Moleküle, beispielsweise cDNA, genomische DNA, mRNA etc. Sie können natürlich vorkommende Moleküle sein, oder durch gentechnische oder chemische Syntheseverfahren hergestellte Moleküle. Sie können einzelsträngige Moleküle sein, die entweder den codierenden oder den nicht codierenden Strang enthalten, oder doppelsträngige Moleküle.

Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Nucleinsäuremoleküle von mindestens 21, vorzugsweise mehr als 50 und besonders bevorzugt mehr als 200 Nucleotiden Länge, die spezifisch mit mindestens einem erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekül hybridisieren. Spezifisch hybridisieren bedeutet hierbei, dass diese Moleküle mit Nucleinsäuremolekülen hybridisieren, die ein erfindungsgemäßes Protein codieren, jedoch nicht mit Nucleinsäuremolekülen, die andere Proteine codieren.

Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft erfindungsgemäße Pflanzen, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus

30 a) T-DNA Molekülen, die durch Integration in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);

- -b)—DNA—Molekülen, die Transposons enthalten, die durch—Integration—in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
- c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym 3 Aktivität in der Zelle führen.

5

10

15

20

25

30

d) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung können erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen auch durch die Verwendung der sogenannten Insertionsmutagenese (Übersichtsartikel: Thorneycroft et al., 2001, Journal of experimental Botany 52 (361), 1593-1601) hergestellt werden. Unter Insertionsmutagenese ist im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung insbesondere das Inserieren von Transposons oder sogenannter Transfer DNA (T-DNA) in ein Gen oder in die Nähe eines Gens, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3 zu verstehen, wobei dadurch die Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in der betreffenden Zelle erhöht wird.

Bei den Transposons kann es sich dabei sowohl um solche handeln, die in der Zelle natürlicherweise vorkommen (endogene Transposons), als auch um solche, die natürlicherweise nicht in besagter Zelle vorkommen, sondern mittels gentechnischer Methoden, wie z.B. Transformation der Zelle, in die Zelle eingeführt wurden (heterologe Transposons). Die Veränderung der Expression von Genen mittels Transposons ist dem Fachmann bekannt. Eine Übersicht über die Nutzung von endogenen und heterologen Transposons als Werkzeuge in der Pflanzenbiotechnologoie ist in Ramachandran und Sundaresan (2001, Plant Physiology and Biochemistry 39, 234-252) dargestellt.

Die T-DNA Insertionsmutagenese beruht darauf, dass bestimmte Abschnitte (T-DNA) von Ti-Plasmiden aus Agrobacterium-in-das Genom von pflanzlichen Zellen integrieren-können. Der Ort der Integration in das pflanzliche Chromosom ist dabei nicht festgelegt, sondern kann an jeder beliebigen Stelle erfolgen. Integriert die T-DNA in einen Abschnitt oder in die Nähe eines Abschnittes des Chromosoms, der eine Genfuktion darstellt, so kann dieses zur Erhöhung der Genexpression und damit auch zur Änderung der Aktivität eines durch das betreffende Gen codierten Proteins führen.

Die in das Genom inserierten Sequenzen (insbesondere Transposons oder T-DNA) zeichnen sich dabei dadurch aus, dass sie Sequenzen enthalten, die zu einer Aktivierung von regulatorischen Sequenzen eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 Gens führen ("activation tagging").

5

10

15

Erfindungsgemäße Pflanzenzellen und Pflanzen können mit Hilfe der Methode des sogenannten "activation taggings" (siehe z. B. Walden et al., Plant J. (1991), 281-288; Walden et al., Plant Mol. Biol. 26 (1994), 1521-1528) erzeugt werden. Diese Methode beruht auf der Aktivierung endogener Promotoren durch "enhancer"-Sequenzen, wie z.B. dem Enhancer des 35S RNA-Promoters des Blumenkohlmosaikvirus oder dem Octopinsynthase-Enhancers.

- 20 Unter dem Begriff "T-DNA activation tagging" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein T-DNA Fragment verstanden werden, das "enhancer"-Sequenzen enthält und durch Integration in das Genom einer Planzenzelle zu der Erhöhung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.
- Unter dem Begriff "Transposon activation tagging" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung ein Transposon verstanden werden, das "enhancer"-Sequenzen enthält und durch Integration in das Genom einer Planzenzelle zu der Erhöhung der Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 führt.
- In einer bevorzugten Ausführungsform sind die erfindungsgemäßen DNA Moleküle, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren, mit regulatorischen Sequenzen verknüpft, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer

Verzweigungsenzym Klasse-3-Aktivität-in-der-Zelle führen. Die erfindungsgemäßen-Nucleinsäuremoleküle liegen dabei zu den regulatorischen Sequenzen in "sense"-Orientierung vor.

- Zur Expression erfindungsgemäßen Nucleinsäuremolekülen, die 5 von 3 Verzweigungsenzyme Klasse codieren, werden diese vorzugsweise mit regulatorischen DNA-Sequenzen verknüpft, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten. Hierzu zählen insbesondere Promotoren. Generell kommt für die Expression jeder in pflanzlichen Zellen aktive Promotor in Frage.
- Der Promotor kann dabei so gewählt sein, dass die Expression konstitutiv erfolgt oder nur in einem bestimmten Gewebe, zu einem bestimmten Zeitpunkt der Pflanzenentwicklung oder zu einem durch äußere Einflüsse determinierten Zeitpunkt.

  Sowohl in Bezug auf die Pflanze als auch in Bezug auf das Nucleinsäuremolekül kann der Promotor homolog oder heterolog sein.
  - Geeignete Promotoren sind z.B. der Promotor der 35S RNA des Cauliflower Mosaic 15 Virus und der Ubiquitin-Promotor aus Mais für eine konstitutive Expression, der Patatingen-Promotor B33 (Rocha-Sosa et al., EMBO J. 8 (1989), 23-29) für eine knollenspezifische Expression in Kartoffeln oder ein Promotor, der eine Expression lediglich in photosynthetisch aktiven Geweben sicherstellt, z.B. der ST-LS1-Promotor (Stockhaus et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 (1987), 7943-7947; Stockhaus et al., 20 EMBO J. 8 (1989), 2445-2451) oder für eine endosperm-spezifische Expression der HMG-Promotor aus Weizen, der USP-Promotor, der Phaseolinpromotor, Promotoren von Zein-Genen aus Mais (Pedersen et al., Cell 29 (1982), 1015-1026; Quatroccio et al., Plant Mol. Biol. 15 (1990), 81-93), Glutelin-Promotor (Leisy et al., Plant Mol. Biol. 14 (1990), 41-50; Zheng et al., Plant J. 4 (1993), 357-366; Yoshihara et al., FEBS Lett. 383 25 (1996), 213-218) oder Shrunken-1 Promotor (Werr et al., EMBO J. 4 (1985), 1373-1380). Es können jedoch auch Promotoren verwendet werden, die nur zu einem durch äußere Einflüsse determinierten Zeitpunkt aktiviert werden (siehe beispielsweise WO 9307279). Von besonderem Interesse können hierbei Promotoren von heat-shock 30 Proteinen sein, die eine einfache Induktion erlauben. Ferner können samenspezifische Promotoren verwendet werden, wie z.B. der USP-Promoter aus Vicia faba, der eine

samenspezifische Expression in Vicia faba und anderen Pflanzen gewährleistet (Fiedler

et-al.,-Plant Mol. Biol. 22 (1993), 669-679; Bäumlein et al., Mol. Gen. Genet. 225 (1991). 459-467).

Ferner kann eine Terminationssequenz (Polyandenylierungssignal) vorhanden sein, die der Addition eines Poly-A-Schwanzes an das Transkript dient. Dem Poly-A-Schwanz wird eine Funktion bei der Stabilisierung der Transkripte beigemessen. Derartige Elemente sind in der Literatur beschrieben (vgl. Gielen et al., EMBO J. 8 (1989), 23-29) und sind beliebig austauschbar.

5

10

15

30

Weiterhin können erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen sogenannten "in situ-Aktivierung", hergestellt werden. Die eingeführte mittels der Modifikation bewirkt dabei eine Veränderung der regulatorischen genetische Sequenzen endogener Verzweigungsenzyme Klasse 3 Gene, was zu einer verstärkten Expression von Verzweigungsenzym Klasse 3 Genen führt. Bevorzugt geschieht die Aktivierung eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens durch "in vivo" Mutagenese eines Promotors oder von "enhancer"-Sequenzen eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens. Dabei kann z.B. ein Promotor oder eine "enhancer"-Sequenz durch derart verändert werden. dass die erzeugte Mutation in Mutagenese erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen zu einer 20 erhöhten Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führt im Vergleich zur Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens in Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen. Die Mutation in einem Promotor oder einer "enhancer"-Sequenz kann auch dazu führen, dass Verzweigungsenzym Klasse 3 Gene in erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen zu einem Zeitpunkt exprimiert werden, zu welchem sie in Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen nicht 25 exprimiert werden.

Bei der sogenannten "in vivo-Mutagenese" wird durch Transformation von Pflanzenzellen ein hybrides RNA-DNA-Oligonucleotid ("Chimeroplast") Pflanzenzellen eingeführt (Kipp, P.B. et al., Poster Session beim " 5th International Congress of Plant Molecular Biology, 21.-27. September 1997, Singapore; R. A. Dixon und C.J. Arntzen, Meeting report zu "Metabolic Engineering in Transgenic Plants", Keystone Symposia, Copper Mountain, CO, USA, TIBTECH 15, (1997), 441-447;

internationale Patentanmeldung WO 9515972; Kren et al., Hepatology 25, (1997), 1462-1468; Cole-Strauss et al., Science 273, (1996), 1386-1389; Beetham et al., 1999, PNAS 96, 8774-8778).

Ein Teil der DNA-Komponente des RNA-DNA-Oligonucleotids ist homolog zu einer Nukleinsäuresequenz eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens, weist jedoch im Vergleich zur Nukleinsäuresequenz eines endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens eine Mutation auf oder enthält eine heterologe Region, die von den homologen Regionen umschlossen ist.

5

Durch Basenpaarung der homologen Regionen des RNA-DNA-Oligonucleotids und des endogenen Nukleinsäuremoleküls, gefolgt von homologer Rekombination, kann die in der DNA-Komponente des RNA-DNA-Oligonucleotids enthaltene Mutation oder heterologe Region in das Genom einer Pflanzenzelle übertragen werden. Dies führt zu einer Erhöhung der Aktivität eines oder mehrerer Verzweigungsenzyme Klasse 3.

- Alle diese Methoden beruhen auf der Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls; in das Genom einer Pflanzenzelle oder Pflanze und sind daher grundsätzlich zu Herstellung erfindungsgemäßer Pflanzenzellen und erfindungsgemäßer Pflanzengeeignet.
- 20 Es wurde überraschenderweise gefunden, dass erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen eine modifizierte Stärke synthetisieren im Vergleich zu Stärke von entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen.
- erfindungsgemäßen Pflanzenzellen erfindungsgemäßen Pflanzen 25 Die und synthetisieren eine modifizierte Stärke, die in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften, insbesondere dem Amylosegehalt bzw. dem Amylose/Amylopektin-Verhältnis, dem Verzweigungsgrad, der durchschnittlichen Kettenlänge, der Viskositätsverhalten. der Gelfestigkeit. der Seitenkettenverteilung, dem Stärkekorngröße und/oder der Stärkekornmorphologie im Vergleich zu in Wildtyp-30 Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen synthetisierter Stärke verändert ist, so dass diese für spezielle Verwendungszwecke besser geeignet ist.

Daher umfässt die vorliegende Erfindung auch erfindungsgemäße Pflanzenzellen und erfindungsgemäße Pflanzen, die eine modifizierte Stärke synthetisieren.

- Der Begriff "modifizierte Stärke" bedeutet in Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Stärke veränderte physico-chemische Eigenschaften gegenüber nicht modifizierter Stärke, erhältlich aus entsprechenden Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen aufweist.
- 10 In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung handelt es sich bei der modifizierten Stärke um native Stärke.

Der Begriff "native Stärke" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung, dass die Stärke nach dem Fachmann bekannten Methoden aus erfindungsgemäßen Pflanzen, erfindungsgemäßen erntebaren Pflanzenteilen oder erfindungsgemäßem Vormehrungsmaterial von Pflanzen isoliert wird

15 Vermehrungsmaterial von Pflanzen isoliert wird.

Ferner sind Gegenstand der Erfindung genetisch modifizierte Pflanzen, die erfindungsgemäße Pflanzenzellen enthalten. Derartige Pflanzen können durch Regeneration aus erfindungsgemäßen Pflanzenzellen erzeugt werden.

20

25

Bei den erfindungsgemäßen Pflanzen kann es sich prinzipiell um Pflanzen jeder beliebigen Pflanzenspezies handeln, d.h. sowohl um monokotyle als auch dikotyle Pflanzen. Bevorzugt handelt es sich um Nutzpflanzen, d.h. Pflanzen, die vom Menschen kultiviert werden für Zwecke der Ernährung oder für technische, insbesondere industrielle Zwecke.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die erfindungsgemäße Pflanze, ie eine stärkespeichernde Pflanzen.

In einer weitern bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erfindungsgemäße stärkespeichernde Pflanzen der Gattung Solanum, insbesondere Solanum tuberosum.

Der Begriff "stärkespeichernde Pflanzen" umfasst alle Pflanzen mit stärkespeichernden Pflanzenteilen, wie z.B. Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer, Gerste, Maniok, Kartoffel, Sago, Mungbohne, Erbse, oder Sorghum. Bevorzugte stärkespeichernde Pflanzenteile sind z.B. Knollen, Speicherwurzeln und Körner enthaltend ein Endosperm, besonders bevorzugt sind Knollen, inbesondere bevorzugt sind Knollen von Kartoffelpflanzen.

10

**20** ·

Der Begriff "Kartoffelpflanze" oder "Kartoffel" meint im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung Pflanzenspezies der Gattung Solanum, besonders Knollen produzierende Spezies der Gattung Solanum und insbesondere Solanum tuberosum.

15 Die vorliegende Erfindung betrifft auch Vermehrungsmaterial erfindungsgemäßer Pflanzen, enthaltend eine erfindungsgemäße Pflanzenzelle.

Der Begriff "Vermehrungsmaterial" umfasst dabei jene Bestandteile der Pflanze, die geeignet sind zur Erzeugung von Nachkommen auf vegetativem oder sexuellem Weg. Für die vegetative Vermehrung eignen sich beispielsweise Stecklinge, Calluskulturen, Rhizome oder Knollen. Anderes Vermehrungsmaterial umfasst beispielsweise Früchte, Samen, Sämlinge, Protoplasten, Zellkulturen, etc. Vorzugsweise handelt es sich bei dem Vermehrungsmaterial um Samen und besonders bevorzugt um Knollen.

In einer weiteren Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung erntebare Pflanzenteile erfindungsgemäßer Pflanzen, wie Früchte, Speicherwurzeln, Wurzeln, Blüten, Knospen, Sprosse oder Stämme, vorzugsweise Samen oder Knollen, wobei diese erntebaren Teile erfindungsgemäße Pflanzenzellen enthalten.

Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung auch ein Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemäßen genetisch modifizierten Pflanze, worin

- a) eine Pflanzenzelle genetisch modifiziert wird, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen führt;
- b) aus Pflanzenzellen von Schritt a) eine Pflanze regeneriert wird; und

5

20

25

- c) gegebenenfalls weitere Pflanzen mit Hilfe der Pflanzen nach Schritt b) erzeugt werden.
- Für die laut Schritt a) in die Pflanzenzelle eingeführte genetische Modifikation gilt, dass es sich grundsätzlich um jede Art von Modifikation handeln kann, die zur Verringerung der Aktivität eines Verzweigunsenzyms Klasse 3 führt Die Regeneration der Pflanzen gemäß Schritt (b) kann nach dem Fachmann bekannten Methoden erfolgen (z.B. beschrieben in "Plant Cell Culture Protocols", 1999, edt. by R.D. Hall, Humana Press, ISBN 0-89603-549-2).
  - Die Erzeugung weiterer Pflanzen gemäß Schritt (c) des erfindungsgemäßen Verfahrens kann z.B. erfolgen durch vegetative Vermehrung (beispielsweise über Stecklinge, Knollen oder über Calluskultur und Regeneration ganzer Pflanzen) oder durch sexuelle Vermehrung. Die sexuelle Vermehrung findet dabei vorzugsweise kontrolliert statt, d.h. es werden ausgewählte Pflanzen mit bestimmten Eigenschaften miteinander gekreuzt und vermehrt.
  - In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht die genetische Modifikation in der Einführung eines erfindungsgemäßen fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanzenzelle, wobei das Vorhandensein oder die Expression besagten fremden Nucleinsäuremoleküls zu einer erhöhten Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 in der Zelle führt.
- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäße Verfahren zur Erzeugung erfindungsgemäßer Kartoffelpflanzen verwendet.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, ist das fremde Nukleinsäuremolekül ausgewählt, aus der Gruppe bestehend aus

- a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
- b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
  - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
- 10 d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;

15

- e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremoleküle unter stringenten Bedingungen hybridisieren;
- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetischen Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate 20 der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das fremde Nukleinsäuremolekül ausgewählt, aus der Gruppe bestehend aus

- a) T-DNA Molekülen, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer
   25 Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);
  - b) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
- 30 c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen

Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym 3 Aktivität in der Zelle führen;

d) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.

5

15

25

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die durch das erfindungsgemäße Verfahren 10 erhältlichen Pflanzen.

In einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens synthetisieren die erfindungsgemäßen Pflanzen im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzen eine modifizierte Stärke.

Es wurde überraschenderweise gefunden, dass Pflanzenzellen und Pflanzen, die eine erhöhte Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aufweisen, eine modifizierte Stärke synthetisieren.

20 Die vorliegende Erfindung betrifft auch die durch das erfindungsgemäße Verfahren erhältlichen Pflanzen.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch modifizierte Stärken, erhältlich aus erfindungsgemäßen Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßen Pflanzen, aus erfindungsgemäßem Vermehrungsmaterial oder aus erfindungsgemäßen erntebaren Pflanzenteilen.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung modifizierte Kartoffelstärken.

30 Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke, umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer erfindungsgemäßen Pflanzenzelle oder einer erfindungsgemäßen Pflanze, aus-

erfindungsgemäßem Vermehrungsmaterial einer solchen Pflanze und/oder aus erfindungsgemäßen erntebaren Pflanzenteilen einer Solchen Pflanze, vorzugsweise aus erfindungsgemäßen stärkespeichernden Teilen einer Pflanze. Vorzugsweise umfasst ein solches Verfahren auch den Schritt des Erntens der kultivierten Pflanzen bzw. Pflanzenteile und/oder des Vermehrungsmaterials dieser Pflanzen vor der Extraktion der Stärke und besonders bevorzugt ferner den Schritt der Kultivierung erfindungsgemäßer Pflanzen vor dem Ernten.

Verfahren zur Extraktion der Stärke aus Pflanzen oder von stärkespeichernden Teilen von Pflanzen sind dem Fachmann bekannt. Weiterhin sind Verfahren zur Extraktion der Stärke aus verschiedenen stärkespeichernden Pflanzen beschrieben, z. B. in Starch: Chemistry and Technology (Hrsg.: Whistler, BeMiller und Paschall (1994), 2. Ausgabe, Academic Press Inc. London Ltd; ISBN 0-12-746270-8; siehe z. B. Kapitel XII, Seite 412-468: Mais und Sorghum-Stärken: Herstellung; von Watson; Kapitel XIII, Seite 469-479; Tapioca-, Arrowroot- und Sagostärken: Herstellung; von Corbishley und Miller; Kapitel XIV, Seite 479-490: Kartoffelstärke: Herstellung und Verwendungen; von Mitch; Kapitel XV, Seite 491 bis 506: Weizenstärke: Herstellung, Modifizierung und Verwendungen; von Knight und Oson; und Kapitel XVI, Seite 507 bis 528: Reisstärke: Herstellung und Verwendungen; von Rohmer und Klem; Maisstärke: Eckhoff et al., Cereal Chem. 73 (1996), 54-57, die Extraktion von Maisstärke im industriellen Maßstab wird in der Regel durch das sogenannte "wet milling" erreicht.). Vorrichtungen, die für gewöhnlich bei Verfahren zur Extraktion von Stärke von Pflanzenmaterial verwendet sind Separatoren, Dekanter, Hydrocyclone, Sprühtrockner und werden, Wirbelschichttrockner.

25

30

5

10

15

20

Unter dem Begriff "stärkespeichernde Teile" sollen im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung solche Teile eine Pflanze verstanden werden, in welchen Stärke, im Gegensatz zu transitorischer Blattstärke, zur Überdauerung von längeren Zeiträumen als Depot gespeichert wird. Bevorzugte stärkespeichernde Teile sind Knollen, Speicherwurzeln, Samen oder Endosperm, besonders bevorzugt sind Kartoffelknollen oder das Endosperm von Mais-, Weizen- oder Reispflanzen.

Modifizoierte Stärke, erhältlich nach einem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung modifizierter Stärke, ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Weiterhin ist die Verwendung erfindungsgemäßer Pflanzenzellen oder erfindungsgemäßer Pflanzen zur Herstellung einer modifizierten Stärke Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

5

20

25

Dem Fachmannn ist bekannt, dass die Eigenschaften von Stärke durch z.B. thermische, chemische, enzymatische oder mechanische Derivatisierung verändert werden können.

Derivatisierte Stärken sind für verschiedene Anwendungen im Nahrungsmittel- und/oder Nicht-Nahrungsmittelbereich besonders geeignet. Die erfindungsgemäßen Stärken sind als Ausgangssubstanz besser geeignet zur Herstellung von derivatisierten Stärken als herkömmliche Stärken.

15 Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke, worin erfindungsgemäße modifizierte Stärke, nachträglich derivatisiert wird.

Unter dem Begiff "derivatisierte Stärke" soll im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine erfindungsgemäße modifizierte Stärke verstanden werden, deren Eigenschaften nach der Isolierung aus pflanzlichen Zellen mit Hilfe von chemischen, enzymatischen, thermischen oder mechanischen Verfahren verändert wurde.

In einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung handelt es sich bei der erfindungsgemäßen derivatisierten Stärke um Hitze und/oder Säurebehandelte Stärke.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärkeether, insbeondere um Stärke-Alkylether, O-Allylether, Hydroxylalkylether, O-Carboxylmethylether, stickstoffhaltige Stärkeether, phosphathaltige Stärkeether oder schwefelhaltige Stärkeether.

30 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um vernetzte Stärken.

In einer weiteren bevorzugten-Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärke-Pfropf-Polymerisate.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um oxidierte Stärken.

- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den derivatisierten Stärken um Stärkeester, insbesondere um Stärkeester, die unter Verwendung von organischen Säuren in die Stärke eingefürhrt wurden. Besonders bevorzugt handelt es sich um Phosphat-, Nitrat-, Sulfat-, Xanthat-, Acetat- oder Citratstärken.
- Die erfindungsgemäßen derivatisierten Stärken eignen sich für verschiedene Verwendungen im Nahrungsmittel- und/oder Nicht-Nahrungsmittelbereich. Methoden zur Herstellung von erfindungsgemäßen derivatisierten Stärken sind dem Fachmann bekannt und in der allgemeinen Literatur ausreichend beschrieben. Eine Übersicht zur Herstellung von derivatisierten Stärken findet sich z.B. bei Orthoefer (in Corn, Chemistry and Technology, 1987, eds. Watson und Ramstad, Chapter 16, 479-499).

Derivatisierte Stärke, erhältlich nach dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke ist ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

20

Ferner ist die Verwendung erfindungsgemäßer modifizierter Stärken zur Herstellung von derivatisierter Stärke Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

## Beschreibung der Sequenzen

5

10

15

20

25

SEQ ID NO 1: Nucleinsäuresequenz enthaltend die codierende Region des 3'-Bereichs eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 46-196 inseriert.

SEQ ID NO 2: Nucleinsäuresequenz enthaltend die codierende Region des 5'-Bereichs eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 47-196 inseriert.

SEQ ID NO 3: Nucleinsäuresequenz enthaltend die vollständige codierende Region eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist in Plasmid AN 49 inseriert und wurde nach dem Budapester Vertrag hinterlegt am 15. September 2003 unter der Nummer DSM 15926 bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Deutschland.

SEQ ID NO 4: Aminosäuresequenz codierend eine Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz ist von der in Plasmid AN 49 inserierten Nucleinsäuresequenz bzw. von der unter SEQ ID NO 3 beschriebenen Nucleinsäuresequenz ableitbar.

SEQ ID NO 5: Nucleinsäuresequenz enthaltend die vollständige codierende Region eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus *Solanum tuberosum* (cv Désirée). Diese Sequenz wurde erhalten durch Zusammenfügen der unter SEQ ID NO 1 und SEQ ID NO 2 beschriebenen Nucleinsäuresequenzen. Diese Nucleinsäuresequenz stellt eine allelische Variante der unter SEQ ID NO 3 beschriebenen Nucleinsäuresequenz, codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3, dar.

30 SEQ ID NO 6: Aminosäuresequenz codierend eine Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Solanum tuberosum (cv Désirée). Diese Sequenz ist. von der unter SEQ ID NO 5 beschriebenen Nucleinsäuresequenz ableitbar und stellt die Aminosäuresequenz einer

allelischen Variante zu der unter SEQ ID NO 4 beschriebenen Aminosäuresequenz, codierend-ein-Verzweigungsenzym-Klasse-3-dar.

### Allgemeine-Methoden--

10

15

20

25

In den Beispielen wurden die folgenden Methoden verwendet:

## 5 Nachweis der Aktivität eines Verzweigunsenzyms Klasse 3

Der Nachweis der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 mit Hilfe der nicht denaturierenden Gelelektrophorese wurde wie folgt durchgeführt :

Zur Isolierung von Proteinen aus Pflanzen wurde das Probenmaterial in flüssigem Stickstoff gemörsert, in Extraktionspuffer (50 mM Na-Citrat, pH 6.5; 1 mM EDTA, 4 mM DTT) aufgenommen und nach Zentrifugation (10 min, 14.000 g, 4 °C) direkt zur Messung der Proteinkonzentration nach Bradford eingesetzt. Anschließend wurde je nach Bedarf 5μg bis 20 μg Gesamt-Proteinextrakt mit 4-fach Loading-Buffer (20% Glycerin, 125 mM Tris HCl, pH 6,8) versetzt und auf ein BE-Aktivitätsgel geladen. Das BE-Aktivitätsgel setzt sich wie folgt zusammen: 2,5 ml 30% Acrylamid:0,8% Bisacrylamid, 0,1 ml Laufpuffer, 7,4 ml H<sub>2</sub>O, 10% Ammoniumpersulfat-Lösung und 5 μl N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin (TEMED). Der Laufpuffer (RB) setzte sich wie folgt zusammen: RB = 30,2 g Tris-Base, pH 8.0, 144 g Glycine auf 1 L H<sub>2</sub>O. Nach Beendigung des Gellaufes wurden die Gele in je 25 ml "Phosphorylase – Puffer" (25 ml 1M Na-Citrat pH 7,0, 0,47 g Glucose-1-Phosphat, 12,5 mg AMP, 2,5 mg Phosphorylase a/b aus "rabbit") über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die Färbung der Gele wurde mit Lugol'sche Lösung durchgeführt.

#### Transformation von Oryza sativa (cv. M202)

Reispflanzen wurden nach der von Hiei et al. (1994, Plant Journal 6(2), 271-282) beschriebenen Methode transformiert.

#### Beispiel 1

5

20

25

# Klonierung einer Vollängensequenz codierend ein Verzweigungsenzym Klasse 3 aus Solanum tuberosum

Die Gensequenz codierend für dieses Verzweigungsenzym Klasse 3 ist in Solanum tuberosum bisher noch nicht beschrieben worden.

Über Sequenzvergleiche mit verschiedenen Verzweigungsenzymen konnte eine Domäne identifiziert werden, mit deren Hilfe EST-Datenbanken durchmustert wurden. Hierbei konnte der EST TC73137 (TIGR Datenbank; http://www.tigr.org/tigr-scripts/tgi/tc\_report.pl?tc=TC73137&species=potato) aus Kartoffel identifiziert werden.

Mit Hilfe der Primer B1\_Asp (GAT GGG TAC CAG CAC TTC TAC TTG GCA GAG G)
und B2\_Sal (TCA AGT CGA CCA CAA CCA GTC CAT TTC TGG) konnte eine zu
dieser EST-Sequenz korrespondierende Sequenz aus einer knollespezifischen cDNABank von Solanum tuberosum (cv. Désirée) amplifiziert werden. Versuche,
blattspezifische, "sink"- oder "source"-Gewebe spezifische cDNA-Banken als Template
für die PCR Reaktion zu verwenden, führten zu keinem Amplifikat.

Um die gesamte codierende Sequenz des betreffenden Verzweigungsenzyms, die auch bisher unbekannte Sequenzen umfasst, zu amplifizieren, wurden Primer hergestellt, die zu den Enden der bisher bekannten Sequenz und Vektorsequenzen der betreffenden cDNA Banken komplememtär sind. Bei allen mittels dieses Ansatzes verwendeten Primerkombinationen zur Amplifikation einer vollänge Sequenz eines Verzweigungsenzyms Klasse 3, konnte kein weiterer Bereich amplifiziert werden. Daraufhin wurden EST-Datenbanken von Tomate erneut durchmustert.

Hierbei konnten zwei ESTs aus Tomate identifiziert werden (TIGR Datenbank; BG127920 und TC130382), die entweder eine hohe Homologie zu dem oben beschriebenen Amplifikat des Verzweigungsenzyms Klasse 3 aus Kartoffel (TC130382) bzw. (BG127920). oder zu dem putativen Verzweigungsenzym Gen aus Arabidopsis (Genbank: GPI9294564|dbi|BAB02827.1) aufweisen.

Es wurden nun erneut Primer hergestellt, um auch bisher unbekannte Sequenzen des Verzweigungsenzyms Klasse 3 zu amplifizieren. Mittels PCR wurde aus einer cDNA Bank, hergestellt aus Knollen von Solanum tuberosum (cv. Désirée), mit den Primern

KM2\_Spe (5'-TCAAACTAGTCACAACCAGTCCATTTCTGG-3') und So\_putE\_(5'-CACTTTAGAAGGTATCAGAGC-3') der 3'-Bereich des Verzweigungsenzyms Klasse 3 amplifiziert. Das erhaltende ca. 1 kb große Fragment wurde ungerichtet in den pCR4-TOPO Vektor von Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das entstandene
 Plasmid wurde als AN 46-196 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 46-196 ist unter SEQ ID No 1 dargestellt.

Der 5'-Bereich wurde ebenfalls mittels PCR-Technik und unter Verwendung der Primer So\_put5' (5'-GTATTTCTGCGAAGGAACGACC-3') und So\_putA (5'-AACAATGCTCTCTGTCGG-3') aus der selben cDNA-Bank amplifiziert. Das erhaltende ca. 2 kb große Fragment wurde ungerichtet in den pCR4-TOPO Vektor von Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das entstandene Plasmid wurde als AN 47-196 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 47-196 ist unter SEQ ID No 2 dargestellt.

Es wurden nun erneut Primer hergestellt, um eine Vollängensequenz zu amplifizieren. Folgende Primer wurden verwendet: SO\_putA (AACAATGCTCTCTCTGTCGG) und SO\_putE (CACTTTAGAAGGTATCAGAGC). Ein ungefähr 3,2 kb großes PCR-Produkt wurde erhalten und in den pCR2.1-Vektor der Firma Invitrogen (Produktnummer: 45-0030) kloniert. Das erhaltene Plasmid (hinterlegt unter DSM 15926) wurde mit AN 49 bezeichnet. Die Sequenz des inserierten Fragments im Plasmid AN 49 ist unter SEQ ID No 3 dargestellt.

## Beispiel 2

10

15

20

<sup>-</sup>25

# Angaben zu Vektoren und Plasmiden

# Herstellung des Expressionsvektors ME5/6

pGSV71 ist ein Derivat des Plasmides pGSV7, welches sich vom intermediären Vektor pGSV1 ableitet. pGSV1 stellt ein Derivat von pGSC1700 dar, dessen Konstruktion von Cornelissen und Vanderwiele (Nucleic Acid Research 17, (1989), 19-25) beschrieben

wurde. pGSV1 wurde aus pGSC1700 erhalten, durch Deletion des Carbenicillin Resistenzgen, sowie Deletion der T-DNA-Sequenzen der TL-DNA-Region des Plasmides pTiB6S3.

pGSV7 enthält den Replikationsursprung des Plasmides pBR322 (Bolivar et al., Gene 2, (1977), 95-113) sowie den Replikationsursprung des *Pseudomonas*-Plasmides pVS1 (Itoh et al., Plasmid 11, (1984), 206). pGSV7 enthält außerdem das selektierbare Markergen *aadA*, aus dem Transposon Tn1331 aus *Klebsiella pneumoniae*, welches Resistenz gegenüber den Antibiotika Spectinomycin und Streptomycin verleiht (Tolmasky, Plasmid 24 (3), (1990), 218-226; Tolmasky and Crosa, Plasmid 29(1), (1993), 31-40)

Das Plasmid pGSV71 wurde erhalten durch Klonierung eines chimären bar-Gens zwischen die Borderregionen von pGSV7. Das chimäre bar-Gen enthält die Promotorsequenz des Blumenkohlmosaikvirus zur Initiation der Transkription (Odell et al., Nature 313, (1985), 180), das bar-Gen aus Streptomyces hygroscopicus (Thompson et al., Embo J. 6, (1987), 2519-2523) und den 3'-untranslatierten Bereich des Nopalinsynthasegens der T-DNA von pTiT37, zur Termination der Transkription und Polyadenylierung. Das bar-Gen vermittelt Toleranz gegenüber dem Herbizid Glufosinat-Ammonium.

Die T-DNA enthält an Position 198-222 die rechte Randsequenz der TL-DNA aus dem Plasmid pTiB6S3 (Gielen et al., EMBO J. 3, (1984), 835-846). Zwischen Nukleotid 223-249 befindet sich eine Polylinker-Sequenz. Die Nukleotide 250-1634 enthalten die P35S3 Promotor-Region des Blumenkohl-Mosaik-Virus (Odell et al., siehe oben). Die codierende Sequenz des Phosphinothricin-Resistenzgen (bar) aus Streptomyces hygroscopicus (Thompson et al. 1987, siehe oben) ist zwischen den Nukleotiden 1635-2186 enthalten. Dabei wurden die zwei endständigen Codons am 5'-Ende des bar-Wildtyp-Gens ersetzt durch die Codons ATG und GAC. Zwischen den Nukleotiden 2187-2205 befindet sich eine Polylinker-Sequenz. Das 260 bp lange Taql-Fragment des nicht-translatierten 3'-Endes des Nopalinsynthase-Gens (3'nos) aus der T-DNA des Plasmides pTiT37 (Depicker et al., J. Mol. Appl. Genet. 1, (1982), 561-573) befindet sich zwischen den Nukleotiden 2206 und 2465. Die Nukleotide 2466-2519 enthalten eine Polylinker-Sequenz. Die linke Randsequenz der TL-DNA aus pTiB6S3 (Gielen et al., EMBO J. 3, (1984), 835-846) befindet sich zwischen den Nukleotiden 2520-2544.

Der Vekter-pGSV71 wurde dann mit dem Enzym *Pst*I aufgeschnitten und geglättet. Aus dem Vekter pB33-Kan wurde der B33 Promotor sowie die *ocs*-Kassette als *Eco*RI-HindIII-Fragment ausgeschnitten und geglättet und in den mit *Pst*I aufgeschnittenen und geglätteten Vekter pGSV71 eingefügt. Der erhaltene Vekter diente als Ausgangsvekter zur Konstruktion von ME5/6: In die zwischen B33-Promotor und *ocs*-Element gelegene *Pst*I-Schnittstelle des Vekters ME4/6 wurde ein Oligonukleotid, enthaltend die Schnittstellen *Eco*RI, *Pac*I, *Spe*I, *Srf*I, *Spe*I, *Not*I, *Pac*I und *Eco*RI, unter Verdopplung der *Pst*I-Schnittstelle eingeführt. Der erhaltene Expressionsvekter wurde als ME5/6 bezeichnet.

10

15

20

5

#### Herstellung des Expressionsvektors IL103-123

Im weiteren Verlauf wurde ein BamHI-Fragment von ME5-6 gegen ein um einige Schnittstellen erweitertes aber ansonsten identisches PCR-Produkt ausgetauscht, wodurch das Plasmid UL1-17 entstand. Der in UL1-17 enthaltene B33-Promotor wurde mit den Restriktionsenzymen Hindll und Pstl herausgeschnitten und der Vektor nach ·Glätten der Ende religiert, was den Vektor ML18-56 liefert. Dieser Vektor wurde mit Munl und Pstl geöffnet und eine durch zwei Oligonukleotide synthetisierte MCS mit entsprechenden klebrigen Enden eingefügt. Das so entstandene Plasmid ML72-123 wurde mit den Restriktionsenzymen Hpal und Munl geöffnet und Oligonukleotide für Erkennungssequenzen weiterer Restriktionsenzyme eingeführt (IR96-123). Nachfolgend wurde ein Ecl136II/EcoRV PCR-Produkt für den Globulin-Promotor aus Reis in die EcoRV-Schnittstelle von IR96-123 ligiert, wodurch der Basisvektor für eine endospermspezifsche Expression von Genen verschiedensten Ursprungs erzeugt wurde. Dieser Vektor wird im folgenden als IR103-123 bezeichnet.

25

30

## Herstellung des Plasmides AH33-191

Die Herstellung des Plasmides AH33-191 für eine endosperm-spezifische Expression eines potentiellen Verzweigungsenzymes Klasse 3 aus Kartoffel in Reis erfolgte durch Ligation eines *EcoRV/Sacl-*Fragmentes der entsprechenden cDNA aus dem Plasmid AN49 in die entsprechenden Schnittstellen von IR103-123.

## **Beispiel** 3

# Genetisch modifizierte Pflanzen mit erhöhter Verzweigungsenzym Klasse 3 Aktivität

Zur Erzeugung transgener Reispflanzen, die eine erhöhte Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens aufweisen, wurde die T-DNA des Plasmids AH33-191 mit Hilfe von Agrobakterien, wie oben unter allgemeine Metoden beschrieben, in Reispflanzen (M202) transferiert

Die Analyse der erhaltenen transgenen Reispflanzen mit Hilfe der nicht denaturierenden Gelelektrophorese von Protein-Extrakten aus Körneren von Wildtyp-Pflanzenzellen und/oder Protein-Extrakten von genetisch modifizierten Pflanzen, zeigte dass die Körner von genetisch modifizierten Pflanzenzellen eine erhöhte Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 aufweisen, im Vergleich zu Protein-Extrakten aus Körnern von Wildtyp-Pflanzenzellen.

5

15

20

- —1. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine erhöhte Aktivität mindestens eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen aufweist.
- Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 1, wobei die genetische Modifikation in der Einführung mindestens eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanze besteht.
- Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 2, wobei das fremde Nucleinsäuremolekül ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codiert.
  - 4. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach Anspruch 3, wobei besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
    - a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
    - Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
    - c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;
    - d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder
       c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens
       50% aufweist;
    - e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder —c) beschriebenen –Nucleinsäuremolekülen unter stringenten-Bedingungen hybridisieren;
    - f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetisches Codes von der Sequenz der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und

5. Genetisch modifizierte Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 2 bis 4, wobei besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus

10

15

20

- a) T-DNA Molekülen, die durch Integration in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);
- DNA Molekülen, die Transposons enthalten, die durch Integration in das pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
  - c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym Klasse 3 Aktivität in der Zelle führen.
  - d) Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.
- 6. Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 1 bis 5, die im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen eine modifizierte Stärke synthetisiert.
  - 7. Pflanze enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
  - 8. Pflanze nach Anspruch 7, die eine stärkespeichernde Pflanze ist.
  - 9. Pflanze nach Anspruch 7, die eine Mais, Reis, Weizen, Roggen, Hafer, Gerste,
    Maniok, Kartoffel, Sago, Mungbohne, Erbse oder Sorghum Pflanze ist.

Pflanze nach Anspruch 9, die eine Kartoffelpflanze ist.

5

- 11. Vermehrungsmaterial von Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10, enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 12. Erntebare Pflanzenteile von Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10, enthaltend Pflanzenzellen nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 13. Verfahren zur Herstellung einer genetisch modifizierten Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10, worin
  - eine Pflanzenzelle genetisch modifiziert wird, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen führt;
  - b) aus Pflanzenzellen von Schritt a) eine Pflanze regeneriert wird; und
  - c) gegebenenfalls weitere Pflanzen mit Hilfe der Pflanzen nach Schritt b) erzeugt werden.
- 15 14. Verfahren nach Anspruch 13, worin die genetische Modifikation in der Einführung eines fremden Nucleinsäuremoleküls in das Genom der Pflanze besteht.
  - 15. Verfahren nach Anspruch 14, worin besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
- a) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein mit der unter Seq ID NO 4 angegebenen Aminosäuresequenz codieren;
  - b) Nucleinsäuremolekülen, die ein Protein codieren, dessen Aminosäuresequenz eine Identität von mindestens 50% zu der unter SEQ ID NO: 4 angegebenen Aminosäuresequenz aufweist;
- c) Nucleinsäuremolekülen, die die unter Seq ID NO 3 dargestellte Nucleotidsequenz oder eine komplementäre Sequenz umfassen;

- d) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleinsäuresequenz zu den unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuresequenzen eine Identität von mindestens 50% aufweist;
- e) Nucleinsäuremolekülen, welche mit mindestens einem Strang der unter a) oder c) beschriebenen Nucleinsäuremolekülen unter stringenten Bedingungen hybridisieren;

5

10

15

20

25

- f) Nucleinsäuremolekülen, deren Nucleotidsequenz aufgrund der Degeneration des genetisches Codes von der Sequenz der unter a). b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremoleküle abweicht; und
- g) Nucleinsäuremolekülen, die Fragmente, allelische Varianten und/oder Derivate der unter a), b), c), d), e) oder f) genannten Nucleinsäuremolekülen darstellen.
- 16. Verfahren nach Anspruch 14, worin besagtes fremdes Nucleinsäuremolekül ausgewählt ist, aus der Gruppe bestehend aus
  - a) T-DNA Molekülen, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (T-DNA activation tagging);
  - b) DNA Molekülen, die Transposons enthalten, die durch Integration ins pflanzliche Genom zu einer Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 Gens führen (Transposon activation tagging);
    - c) DNA Molekülen, die ein Verzweigungsenzym Klasse 3 codieren und mit regulatorischen Sequenzen verknüpft sind, die die Transkription in pflanzlichen Zellen gewährleisten und zu einer Erhöhung einer Verzweigungsenzym Klasse 3 Aktivität in der Zelle führen;
    - Mittels in vivo-Mutagenese eingeführte Nucleinsäuremoleküle, die zu einer Mutation oder einer Insertion einer heterologen Sequenz in mindestens einem endogenen Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gen führen, wobei die Mutation oder Insertion eine Erhöhung der Expression eines Verzweigungsenzym Klasse 3 codierenden Gens bewirkt.

- 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 bis 16, worin die genetisch modifizierte Pflanze im Vergleich zu entsprechenden nicht genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzen eine modifizierte Stärke synthetisiert.
- 18. Modifizierte Stärke erhältlich aus einer genetisch modifizierten Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10, aus Vermehrungsmaterial nach Ansprüch 11, oder aus erntebaren Pflanzenteilen nach Ansprüch 12.
  - 19. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer Pflanzenzelle nach einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 10 20. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus einer Pflanze nach einem der Ansprüche 7 bis 10.
  - 21. Verfahren zur Herstellung einer modifizierten Stärke umfassend den Schritt der Extraktion der Stärke aus erntebaren Pflanzenteilen nach Anspruch 12.
  - 22. Verfahren zur Herstellung einer derivatisierten Stärke, worin modifizierte Stärke nach Anspruch 18 oder erhältlich durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 19, 20 oder 21 derivatisiert wird.
  - 23. Verwendung von genetisch modifizierten Pflanzen nach einem der Ansprüche 7 bis 10 zur Herstellung einer modifizierten Stärke.
  - 24. Modifizierte Stärke erhältlich nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 19, 20 oder 21.
    - 25. Derivatisierte Stärke erhältlich nach einem Verfahren nach Anspruch 22.
    - 26. Verwendung von modifizierter Stärke nach einem der Ansprüche 18 oder 24 zur -- Herstellung-von derivatisierter Stärke.

15

## Zusammnefassung

Die vorliegende Erfindung betrifft-Pflanzenzellen-und Pflanzen, die-genetischmodifiziert sind, wobei die genetische Modifikation zur Erhöhung der Aktivität eines
pflanzlichen Verzweigungsenzyms Klasse 3 im Vergleich zu entsprechenden nicht
genetisch modifizierten Wildtyp-Pflanzenzellen bzw. Wildtyp-Pflanzen führt. Ferner
betrifft die vorliegende Erfindung Mittel und Verfahren zur Herstellung solcher
Pflanzenzellen und Pflanzen. Derartige Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisieren
eine modifizierte Stärke. Die vorliegende Erfindung betrifft daher auch die von den
erfindungsgemäßen Pflanzenzellen und Pflanzen synthetisierte Stärke sowie
Verfahren zur Herstellung dieser Stärke, als auch die Herstellung von
Stärkederivaten dieser modifizierten Stärke.

		30-09-2	
SwissProt Acc No.	Aminosäure Nr.	SwissProt Acc No. oder	Aminosäure Nr.
Entry Name		Entry Name	
APU_THETU	1251-1331	Q9XED2	·101 <del>-1</del> 91
GLGB_SYNY3	22-110	Q08131	137=227
	39-130	GLGB_HUMAN	73-168
P71095	181-274	Q9V6K7	52-144
Q9RXB0	301-395	Q22137	53-147
PULA_KLEPN	1143-1238	Q9RM63	· 25-149
P70983	205-298	ISOA_FLASP	36-163
Q41386	202-295	ISOA PSEAY	30 <b>-</b> 155
O64454	105-191	P73608	22-122
O69008	103-191	004196	74-177
O34587	231 <b>-</b> 319	Q9SPT7	8-110
Q9XDB5	223-311	Q41742	114-218
PULA_THEMA	206-300	GLGX_HAEIN	10-101
Q59319		Q9RNH5	20-117
YIEL_ECOLI	41-123	GLGX_ECOLI	9-104
Q9RX51	22-100 24-116	Q9RXP5	13-108
O66936	141-233	GLGX_MYCTU	24-119
Q59832		Q9X947	18-113
GLGB_STRAU	160-252	P72691	19-120··
GLGB_BUTFI	24-116	P95868	17-117
GLGB_AGRTU	130-223	084046	11-108
Q9RQI5	134-226	Q9Z8F5	11-108
GLGB_ECOLI	122-214	Q9ZVT2	232-335
GLGB_HAEIN	122-214	Q44528	2-83
GLGB_SYNY3	126-217	Q9X2G0	276-357
GLGB_MYCTU	127-223	Q9X2G0	15-98
Q9RTB7	26-115	Q45643	46-114
GLGB_BACSU	23-115	Q9X2G0	126-217
Q59242	23-115	TREZ_ARTSQ	5-90
O84874	117-209	TREZ_MYCTU	2-68
O49185	62-153	Q55088	1-79
GLGB_YEAST	59-153	Q53641	1-79
Q9Y8H3	47-147	Q3304 I	1 10

Tabelle 1 Aminosäuresequenzen, enthalten in dem "seed alignment", das zur Erstellung des HMM für die Pfam Isoamylase Domäne (PF 02922) verwendet wird. Angegeben sind die "accession" Nummer (Acc No) oder der Name (Entry Name), unter welcher/welchem die entsprechenden Aminosäuresequenzen in der SwissProt Datenbank eingetragen sind. Weiterhin sind diejenigen Abschnitte der Aminosäuresequenzen des entsprechenden SwissProt Eintrages angegeben, die Bestandteil des "seed alignments" sind (Aminosäure Nr.).

SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.	SwissProt Acc No. oder Entry Name	Aminosäure Nr.
AMYM_BACLI	137-479	CDG1_PAEMA	46-426
MALZ ECOLI	128-522	CDGT_BACOH	44-420
APU THESA	393-821	AMYB_PAEPO	751-1107
APUTHEET	390-820	AMYA_ASPOR	34-390
CDAS THEET	136-494	AMY1_DEBOC	49-405
NEPU_BACST	139-497	AMY1_SACFI	40-396
AMYM_BACAD	139-497	AMY1_ECOLI	193-611
AMY2 DICTH	138-470	ISOA_PSEAY	209-652
MALT_AEDAE	29-425	AMY_BUTFI	126-520
MAL2_DROME	30-432	AMY_BACSU	41-383
MAL3_DROME	31-428	AMY_THECU	40-392
MAL1_DROME	35-420	AMY_STRHY	37-360
MAXS_YEAST	17-441	AMY_STRGR	35-372
MAYS_YEAST	22-446	AMY_ALTHA	28-373
MA3S_YEAST	21-443	AMYA_AERHY	26-369
TREC_ECOLI	15 <del>-4</del> 14	AMYC_HUMAN	26-413
TREC_BACSU	16-418	AMYA_DROME	29-396
O16G_BACSP	11-420	AMY1_AERHY	22-379
O16G_BACCE	13-419	AMT4_PSESA	38-387
DEXB_STRMU	13-394	AMY2_ECOLI	12-402
AMY_BACME	44-406	AMY_BACLI	34-420
AMY3_DICTH	39-381	AMY_BACAM	34-422
AMY_STRLI	77-520	AMT6_BACS7	40-426
CDGT_KLEPN	47-463	AMY3_WHEAT	26-348
AMYM_BACST	46-430	AM3A_ORYSA	29-367
CDGT_BACST	47-425	AMYA_VIGMU	24-361
AMYR_BACS8	46-425	AM2A_ORYSA	23-366

Tabelle 2 Aminosäuresequenzen, enthalten in dem "seed alignment", das zur Erstellung des HMM für die Pfam Alpha-Amylase Domäne (PF 00128) verwendet wird. Angegeben sind die "accession" Nummer (Acc No) oder der Name (Entry Name), unter welcher/welchem die entsprechenden Aminosäuresequenzen in der SwissProt Datenbank eingetragen sind. Weiterhin sind diejenigen Abschnitte der Aminosäuresequenzen des entsprechenden SwissProt Eintrages angegeben, die Bestandteil des "seed alignments" sind (Aminosäure Nr.).

		44	, <b>.</b>	3373 -249	316 -249	.3936 -249	1139 -249	5877. -249	161 -249	
		φ		<del></del>		•				
		-1998 	≥	-294 -294	-294	-294 -294	-3558 -294 	166 -294	-3582	<del></del>
		384	>	-2330 -369	-1619 -369	. 400 369	-2514 -369	-6008	343	•
		201	<b>-</b> .	159	-593 117	387	-1159 117	4943	-3237 117	
			ဟ	-777 359	-924 359	545 359	-1753 359	4652 359	-260 359	
		45	œ	-1058 96	-2737 96	96 96	4376 96	-5049 96	-4397 96	
		-313	ø	-3877	241 45	-172 45	4199 45	-3996 45	4218 45	
		-5	۵	2303 394	-680 394	2668 394	4871 394	-5515 394	109 394	
		-142	z	. 4157 275	-1115 275	-2653 275	4465 275	-3689 275	4485 275	
		-1085	Σ	739	463 -720	-3486 -720	1112 -720	-5732 -720	-2327 -720	1/9
		905	٠.	-2763 -466	78 466	-1032 -466	2525 -466	45 468 468	-29 -466	rabelle 3, Blatt
		249	⊼ Ę	4218 210	373 210	1255 210	4575 210	-1174 210	4593 210	Tabell
	4	197	- Ž	-2412 -626	-32 -1609 -526	-1878 -626	-829 -826	471 626	-635 -626	•
	-8455	-1158	π <del>ξ</del>	-3427	-1378 -2632 106	-1378 -313 106	-1378 -3692 106	-1378 -4321 106	-1378 -3713 106	-1378
	4	453	<b>ာ</b> နိ	4575	-701 1339 399	-701 -4001 399	-701 -2106 399	3551 399	-701 -1817 399	-704
	-8455	-294	<u>"</u>	312	-1115 635 381	-1115 -1199	-1115 2143 -381	-1115 -6643 -381	-1115 482 -381	-1115
	-1000	338	<b>w</b> .	4583	48 45 4	8 8 8	-894 -1806 43	-894 -753 -753	-894 -1558 43	-894
	-1000	82	۵	- 6527 -5203 -5203	-11703 -455	-11899 -2899	-11958 -5615	-11858 -1172	-11983 -5632 -5632 233	-11983
	4	-8455 -1558	949 C	.2912	-10660 -4276	-10857 -4386	-3101 -3101	-10916 -6327	2712 446 -5632 -1 -10941 -11983 -149 -500 233	-10941
	-8455	595 4	0.222 A	# -32 -32 -33 -32	503	- 886	-145 -1- -1972	-1026	2712 -149	7
2.3 2.3			-56.839790	<del></del>	0	, , ຕໍ	, , 4	, ເທ	. , <b>0</b> ,	•
		<b>ь</b> ш								

Tabelle 3 Angaben zur Erstellung des HMM für die Pfam Isoamylase Domäne (PF 02922)

hmmbuild -F HMM\_Is.ann SEED.ann hmmcalibrate.--seed 0 HMM\_Is.ann 65 HMMERR2.0 [2.3.1]
NAME isoamylase\_N
ACC PF02922
DESC isoamylase N-term
LENG 121
ALPH Amino
RF no
CS no
MAP yes
COM hmmbuild -F HMM\_Is
COM hmmcalibrate.--seed I
NSEQ 65
DATE
CKSUM 3012
GA 2.3.2.3

^	ω	თ	9	Ξ	12	13	4	15	91	7	8	6	20	
-3981 -249	2394 -249	380 -249	-15 -249	-3345	-2959	-3831 -249	-1529	-2315 -249	-5237 -249	-2410 -249	-3260	-266 -249	-771 -249	
4653 -294	1850	4365 -294	-29 <del>4</del>	-294 -294	-3637	-294 -294	-1876	-2998	-5331	-3046 -294	-3933	-294	-4659 -294	-
312 - -369	834 -369	-577 -369	-1189 -369	-888	-3067 -369	4063 -369	1517 -369	-289	335 -369	802 -369	2044 -369	-1409 -369	4098 -369	
1327 117	.1672 117	-340	-514	-855 117	912	2401	-1503 117	-1284 117	-2415 117	-1440 117	459 117	470	117	
428 359	.1606 359	144 359	164 359	-2257 359	-621 359	-2580 359	-2162 359	-1224 359	816 359	-1401 359	-2196 359	203 359	359	
-67 96	168 96	-268 96	96 96	-2097 96	-253 96	-2778 96	-2591 96	-1068 96	-4699 96	-1233 96	-2044 96	-585 96	454 86	
-102 45	1158 45	1174 45	-1590 45	775	738 45	823 45	-2380 45	683 45	4449 45	-729 45	-1495 45	395 45	186 . 45	
4102 394	•	1346 394	·	230 394	394	-3560 394	-3139 394	-2408 394	477 394	1166 394	-3378 394	-1034 394	-360 394	
1206 275		244 -	2026 275	448	1275	1207	275	1507	-3556 275	-1122 275	353 275	1770 275	-12 275	
-169		3267	.2963 - -720	-2931 -720	2049	-3642	1929	-1903	-4214 -720	-1944	-2833 -720	-3078	-3565 -720	578
4467	•	•		-		4468	141	-2828 466	-5141	-2816 -2816	-1513 466	4005	4492	e 3, Blatt 2/9
-1-		1953	458	467	389	-2156 -2156	-2718	64 69 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64 64	4947	864	1272	808	627 210 210	Tabelle
-580	346 346	· - 9	-626 -3935	-920	810 810	4550	1265	-626 -2880	4858	-020	-526 -3779	4060	-696 -696 -626	•
3316	105 1378 3587	1378 276	106 -106 -2048	-2003 -59	85- 65- 65- 65- 65- 65- 65- 65- 65- 65- 6	106 41 2276	8 e. 8	136 136	-88 -4399 -4399	-307 -1158	106 -749 -1948	214 2148 344 344	-3458 -196 -106	-2654
	399 -701 4749	399 -701 -1316	399 -3823 1176	399 -4637 836	399 -1364 -553	399 -5168 892	399 -5452 -398	399 -5563 -240	3282 3282	399 -2384 -2427	399 -1304 -89	399 -1909 1492	399 -138 2552 399	-250
1229	-381 -1115 1372	-381 -1115 -4483	-381 -1115 -4188	-381 -1115 -810	-381 -1115 -3762	-381 -1115 -4735	-381 -1115 -1379	-381 -1115 602	-381 -1115 -5091	-381 -1115 -3091	-381 -115 -4041	-381 -1115 -4310	-381 -1115 -1213 -381	-1115
													43 -894 -506 -506	
2893	233 1983 5058	233 -2276 1665	233 -2164 616	233 -5043 1826	233 -931 1648	233 -1751 -1367	233 -2404 -3700	233 4097 2298	233 -3483 -4788	233 -698 -1292	233 -9845 1692	233 -11137 418	233 5 -558 5 -607 233	-11959
4458	-500 0941 -1 3201 -	-500	-500 -500 10608 -3873	-500 10244 3841	-500 10201 832	-500 -9739 -407	-500 -9232	-500 -8931	-500 -8846 -2556	-500 -8903	-500 -8803 -3738	-500 -10095 -3988	9 -500 2 -10365 4 -4476	-10917
1172 -	-149 -1 -1	-149 -335 -1	-149 -365	-149	-149 -1075 -	-149 -511	-149 -305	6 <del>4</del> 6 4 6 4	- 149 - 139 1047	-149 -1391	149	5 7 <del>1</del> 2 9	-149 -32 -904	7
	. , , ac		ກ , , ⊂	, , <del>,</del>	- , , c	<b>v</b> , , c	, , , ·	er , , t				0 , , 0	20 3	

2		23	25	52	56	27	88.	53	30	3	8.	8 8	
512 .	444-249	1564	531	265 -249	2570 -249	-5256 -249	4985	700 -249	-5893 -249	-834	-866 -249	4988 -249	-249 -5607 -249
1631	4694 -294	-3659 -294	4578	-3750	5535 -294	392-294	-5617	-294 -294	-5500	-294 -294	29-29	-294 -294 -4745	.5892 -294 
2518 -369	714 -369	-410	-3897	2623 -369	-6697 -369	-4553 -369	4961 -369	-682 -369	-1832 -369	-788 -369	-1807 -369	3460 -369 -1017	-369 -369 -369
2145	1578	-3321	896 117	-3396	-7486 117	97	-1675 117	1414	4321	1202	-638	4511 117 976	5011 117
4006 359	-1028 359	-1974 359	501 359	4099 359	-7150 359	2037 359	697 359	-822 359	178 359	-590 359	470 359	-5634 359 1507	359 -6367 359
4478 96	1656 96	-1411 96	2409 96	4568 96	-1618 96	-4834 96	-1215 96	-1460 96	4921	1235 96	1510 96	-2134 96 962	96 9803 98 .
4301 45	-2312 45	-4306 45	-2403 45	-4386 45	-6639 45	4560 45	-3175 45	261 45	-1072 45	1892 45	ર્ક ક	-5948 45 413	.6529 -6529 45
-543 394	4189 394	4977 394	-1077 394	-5058 394	.7759 394	-5320 394	3730 394	-4166 394	394	4151 394	-1906 394	394	394 394 394
4567 275	1974	4572 275	-2834 275	4654 275	-6513 275	-1206 275	-3477 275	2138 275	-1004 275	-983 275	1027 275	6118	275 275 -6804 275
-2403 -720	-3587 -720	-2409 -720	-3447 -720	-2465 -720	-5949 -720	4458 -720	-4564 -720	-3661 -720	-5432 -720	-863 -720	-3661 -720	-720	-3458 -720 -3458 -720
-1338 -466	4488 466	-325 -466	-2327 -466	1669 466	-5859 466	-1991 466	-5465 -466	-4587 -466	-6303 -466	-2673 -466	-2337 -466	-1110	210 466 -23 210 466 -23 3901 2467 -3 210 466 -210 466 -1
4678	450 210	4684	963 210	4761 -	-7815 210	-1677	-1616	. 47- 210	4423	1147	352 210	φ	T: "
860 -626	406 -626	<b>4</b> 32	-1804 -626	-1194 -626	.6546 -626	4952	-5508 -626	-2129 -626	-6257 -626 -626	-993	1		-1791 -626 * 540 -626
-3792 106	-1378 -526 106	-1378 -3796 106	-1378 -2821 106	-1378 -3887 106	• •			-	-1378 -4534 106				481 106 1378 -6387 106 106
-1893 399	-704 -4097 -399	-701 -2056	-701 -4149 	-701 -5013	- <del>1</del> <del>2</del>	-701 -4813	-701 -752 -752	336	-2136 -399	-701 -4058	244 489 899 899	-701 -6466 399 -701	4076 399 -701 -1604 399 -701
433	-1115 190 -381	-1115 3969	-1115 -4550 -381	115	2064	-1115 -5332	-381 -1115 -5759	-1115 -4892	-381 -1115 -6477	-1115 -4875	-381 -1179 -381	-1115 -381 -381 -1115	499 -381 -1115 -1252 -381 -1115
•													758 434 -7120 -7120 -894
-5719	-12065 -1380 -1380	-12065	-12065 -1346 -1346	-1265 -1253	233 -12065 -7990	-12065 -5323	233 -12065 -3578	233 -12065 -945	233 -12065 -3960	-6420 -6420 148	233 -12048 491	-12065 -7042 -7042 -12065	-156 -12065 -7592 -7592 -12065
-3200	-500- -4488	-300 -3207	-500- -11023 1196	-300 -11023 -3277	-500 -11023 -6573	-500 -11023 -4354	-560 -11023 -4943	-500 <u>i</u> -11023 -4571	-500 -11023 -5060	-500 -11023 -4555	-500 -11006 -4572	-367 -11023 -500 -500	458 -500 -11023 -4635 -500 -11023
-903	1902	-149 -1 -1835	-149	-148 -1-	-149 -1 -7635	-149 -1 2849	46 - 48	-149 86	-149 -1 3362	-149 -18 -1049	. 331	-149  -49 	619 -149 -2161 -149
2 1	5 2 2	2	. , 4	, , 2	, , 6,	27	, , &	6	, , o		3 2		ພ ພ ໍ . 4 ະ າ ກາ ະ າ

36	37	38	39	04	4	42	43	4	46	47	48	49	20	
-218 -249	-3925 -249	2201 -249	-4072 -249	-4075 -249	96 -249	-263 -249	-2869	-2292 -246	-2736 -249	-3708 -249	361 -249	50 -249	-4067 -249	
-3666 -294	4259 -294	-294	-4755 -294	-294 -294	-294	-3757	-3552 -294	-2974 -295	-3646	5255 -294	4303	1382	4746	
1652 - -369	945 -369	-1060 -369	-1613 -369	-4196 -369	-678 -369	-3195 -369	-979 -369	-338 -370	-3025 -369	-1471	495 -369	-242 -369	-488 -369	
194	-1925 117	-667	-637 117	-302	459	735 117	45	269	-1715 117	-905 117	-2712 117	819 117	807 117	
-1302 359	4605 359	914 359	55 359	-914 359	398 359	504 359	-1778 359	644 359	-1382 359	-2625 359	-137 359	-1260 359	22 359	
-1396 96	96 96	-3095 96	-1098 96	-1400 96	-215 96	-1822 96	-284 96	447 95	-1954 96	96 96	-2546 96	86. 98	1235 96	
-1129 · 45	-4899 45	-1254 45	-2272 45	-2273 45	-772 45	-1275 45	1860 45	494 48	-734 45	-385 45	383	159 45	-	
4956 ·	-5523 394	-198 394	-4166 394	1201 394	194 394	-267 394	394	393 393	. 2482	-1213 394	960 394	461	-4169 394	
-4518 · 275		-282 275	-715 275	3036 275	2273	1007	77.	897	1962	2355 -2355 275	1492	-2734	536 275	
. 41 . 720			-3660	-120 -3664 -720	3593	-2663	-2457	-1880	-2733	-120 -3291 -720	-3186	-720 -3612	1409	1 4/9
248 466	1969	-1377	4587	-400 -1673 -466	-2300 466	-1313 -1313	100	-2805 -466	-3463	-466 -1027		•	-1440 -466	fabelle 3, Blatt 4/9
. 46.	-5277 240	-2644	414	367	-2246	5. 85 5. 85	-111	1750	-1203	210 689 689	-2051	98-98	2725 210	Tabel
1189					•	•	-526 -3438	•		-				
-248	106 -1378 -4436	-1378 -2937	106 -1378 570	106 -1378 -2733	-1378 1065	-337 -1734	5 4 <b>3</b>	106 -953 -953	105 -28 -1077	106 -2026 303	106 -185 1342	106 4726 465	106 -1378 885 106	-1378
4905	399 -701 2370	388 -701 -919	399 -701 -452	399 -701 -1946	399 -701 1166	399 -2265 1158	399 -5207 1508	399 -5379 845	398 -5694 -1761	399 -407 -3717	399 -3058 -3775	399 -56 1230	399 -701 399	-201
-388	-381 -1115 -56	-381 -1115 1807	-381 -1115 3174	-381 -1115 -4895	-381 -1115 -4824	-381 -1115 -3894	-381 -1115 -3688	-381 -1115 -3110	-381 -4913 -3659	-381 -1115 -4517	-381 -1115 -880	-381 -1115 -1260	-381 -1115 8 96 38.	-1115
-4985	43 -894 -5655	43 411 411	£ \$ 4	. 43 . 369 369	48 44 45 43	899 899 899	43 -894 558	43 -894 -620	2 4 %	8 4 8 6 8 6 8 6 8 6 8 6 8 6 8 6 8 6 8 6	-894 -120	4 98 5	4 98 4	ŕ
-1721	233 12065 -6262	233 12065 2121	233 -12065 1686	233 -12065 362	4329	233 -926 1431	233	233 -1256	232	233 233 -1535 -915	233 -11650	233	233 -12065 -1116	-12065
2801	-500° 11023 -3659	-500 -11023 -4080	-500 -11023,	-500 -11023 4574	-11023 -11023 -1504	-500 -10949	-500 -9872	-500 -500 -9617	-500 -500 -1761	-328 -500 -7357	-500 -10608	-10641 -10641	-11023 -11023 -4560	-5011-
257	-149 -1 -	-149	-149	-149 -149 -149	-149 -74	-149 -1080	-149 -258	-1697 -149 -786	-145 -4000	-1645 -149 -624	-149	-1155 -149 -1-	-149 -3100	-148 -
ď	o , , t	- , , o	0 1 1 9	n 1 5	2 1 1	4 ,	4	4 . w ' ' .	4 · ·	4 . Roin	<b>4</b> .	4 	4 4 50, 100	• •

<u>ب</u>	25	53	. 45	. 55	<b>9</b> .	25	28	29		<b>.</b>	. 62	8	<b>.</b>	
-249	285 -249	-249	798 -249	34	183 -249	.2486 -249	1915 -249	-1370	-3413 -249	-3676 -249	-3773 -249	-209	421	
4739	-3814	-294	-3668	-294	4347	-3108	-2676	-1816 -294	-4095 -294	4359 -294	4459 -294	4687	-294 -294	
-254 -369	1148 -369	-260	-593	260 -369	-1625 -369	-2441 -369	-2134 -369	886 -369	479	-978 -369	-3897 -369	4126 -369	-369	
117	117	-73 117	3320	1286	1052	71 71	1082	1429	-2380 117	1303	1896 117	-837 117	-3684	
554 1 359	3740. 359	359	4004 359	880 359	493 •	1536 359	.1002 359	-1199 359	359	165 359	-881 359		359 359	
930	79- 96	619 96	4465 -4 96	903 96	1913 96	930	-717 - 96	1512 - 96	. 1057 96	1682 96	.2526 96	-304 98	.3662 96	
-814 45	.722 · 45	1442 45	-4279 -4 45	40 54	-1943 1 45	-894 45	-257 45		-1615 45	-602 45	-1969 -	4 <del>2</del>	•	
	-4775 394	2995 1 <sup>4</sup>		59 394	1315 -1 394					3770 394		329		
4	·					•	•			•				
-1344 275	2 %	₩Ń	25.	27.2	7- 73	5- 6		÷.,	5.4	<i></i>	•		•	:
698 -720	-2575	-3663	4259	-3661 -720	-372	-1982	-1648	1503	-3000	-3265	-3366	-3593	-746 -720	t 5/9
-2538 -466	332	4589	1632	4587	-594 466	713	-2508 -2508	8 8	-227 -466	-577	4291	4520	4786	
1301	5. 25.	493	1610	1364	1748	£ 25	1,066	-885 -885 -405	1236	. 68	-113	-1074	3155	Tabelle
-824		4645	2702	65. 1841. 1841.	-4166 -4166	g * 85 8	-2535 -2535	-1010 -1010	-3980	923	-1328	4575	-4688 -4688 -626	•
2738	106 3032 3032	•	•	106 -1378 1453 ·	1378 392	88- 1317	8 6 6 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	5 <del>2</del> 8 8 8	5 <u>5 6</u> 8 5	-235 -235	456 -2427	106 -2136 -313	-2966 -502 -502	-1378
											1882 133	399 -373 1699	399 -198 3185	-707
													-381 -1115 -707	
•	•												43 -894 -	
													233 -11990	
-115	-500 -11023 -3382	-500 -11023 -4573	-500 -11023 -3213	-500 -11023 -4571	-500 -11023 -4145	-500 -10620 -2867	-500 -9243 -2513	-500 -7810 -1426	-500 -8190 -3911	-500 -10278 -4175	-500 -10580 -4275	-500 -10626 -4504	-500 -10947 -4838	-1102
941	-149	-149 -1 ·	-149	-149	-149 404 -2745	-149 -1381 -1634	-149 -1723	-149 -1253 -994	-149 -7 -2441	-149 -78 -272	4. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18. 18	-149	-149	-149
. 0			1,	)	r, 140	, . «	7 1 0	- 1 1 CC	)	, , , c	> · · <del>·</del>	- , , ,	ະ , ເຄ ວ ຜ	

	92	99	67	89	69	6	۲	22	23	75	92	78	79	8	8
	674 -249	1346 -249	-4055 -249	.3338 -249	1250 -249	-3395 ,-249	-249	-3369	2272	-3243	-5028 -250	-1309 -249	-845 -249	-3384	-1177
_	1942	-294	4735	1543	-4629: -294	163 -294	-4757 -294	-4052 -294	-2953	-294	-4854 -296	-1672 -294	4495 -294	2649	-294
	2648 -369	-6724 -369	.1784 -369	1675 -369	1122 -369	2065 -369	-4196 -369	-1418 -369	-2385 -368	-3409 -369	-4841 -368	633 -369	489 -369	820 -369	-4194 -369
	105	.7532 - 117	956	-68 117	1595 117	-1271 117	664	-203	-1245 116	989	-3663 118	-1206 117	284	-1758 117	172
	4005 359	359	1595 359	4028 359	411 359	-4083 359	-922 359	-774 359	1120 359	-1905 359	-3491 363	228 359	-213 359	-1080 359	-661 359
	-4477 -4 96	-7320 -	-312 96	. 4500 . 96	.22 98	4556 96	-1334 96	131 96	-1030 95	-2288 96	-3154 95	-2112 96	-2683 96	-945 96	-2819 96
	-4300 -4 45	-6676 -1 45	-2262 45	4323 -	-707 45	_	-2273 45		480	-1307	-3494 44	-1824 45	-2140 45	-1436 45	-929 -45
	4971 -4 394	.7780 <del>6</del>	•		4215 394	394			-2368	865	4255	2442 394	482	-110	1991 394
	-1483 -4 275	•	•		•	·	423	754	1347	2772	-3488	-2139 -275	162	-1534	-1041 -275
	2403 -1 -720	-	•	-		•		-7.70	-/ 25 -/ 1858 -/ 1858	-3056	-/20 -/20	424	-3384	-720 -2502	-720 -3661 -720 6/9
	-810 -2	•	•		•	-	•	-		-467 -3872	-466 -5453	-465 267	-622	466	210 -466 -1 1572 -2482 -36 210 -466 -1 Tabelle 3, Blatt 6/9
	422				•		. 765-			211 1635	210 77	211	210	210 .963	210 1572 210 Tabellk
	1807	•	•			•		-626 -3940	-626 -2828	-627	-626 * -5604	-627	-626 \$ 504	-626 . * . 1526	-626 -1497 -626
	3792 18	•	106 . 1378 . 3120 .4	•	•	106 -1378 -3875	•	•		704 -28 -1685	106 106 106 106 106 106 106 106 106 106	104 -56 -1566	106 -2585 -2583	106 4010 3621	106 -1378 1424 106 -1378
	•	399 -701 -7926 -4	25 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50	399 387 -2 675 -3	399 124 124	436 436 436 436 436 436 436 436 436 436	. 107- 1049-	399 -701 701							399 -701 291 399 -701
	96 84	115 1	381 115 	381 115 173	381 115 483	381 115 1223	.381 1115 1268	-381 1115 1115	-381 1115	-382 -382 6038 -443	-381 -1115 	-382 -6038 951	-381 -1115	-381 -1115	3 -381 4 -1115 7 -4893 3 -381 4 -1115
	82	5 45 5 45 5 4- 45	8 8 8 8 4 4	5 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43	894 -1 - 2	43 894 155	5 4 5 5	43 43 55	5 4 8 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6	, , , 8 & % 8	. 43 894	. 25. 22. 23. 23. 23. 23. 24. 25. 25. 25. 25. 25. 26. 27. 27. 27. 27. 27. 27. 27. 27. 27. 27	-894 -894	-894 -894 -894	1454 43 43 -894 5 917 8 43 1 -894
	-50	855 8 48	5 5 3 3 3 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	3 <del>2 2</del> 3 3 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	233	233 233 787		5 23 £	233	232 232 2066	2287 233 9427	3346 - 234 - 3427 - 3427	233 2573	1991 1361	5 -4876 23 -12065 23 -12065 20 -233 23 -1691
	. 57	23 2 2 3 3 3 4 3 5 5 5 5 6 5 6 5 6 5 6 6 6 6 6 6 6 6 6	3 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	23 -12 23 -12	500 -3 500 -3 523 -12	500 500 500 500 500 500 500 500 500 500	574 500. 523 -1	226 226 226		3593 -500 8385	3802 -501 -131	2000 -500 8531	4282 -500 10819 -	4 -3305 9 -500 -1 -11023 - 37 -4572 19 -500 36 -11023
	5	3 4 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	24 -5 24 -5 24 -10	2 49 49 49 49 49 49 49 49 49 49 49 49 49	2 <del>6</del> 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	149 149 149 149 149 149 149 149 149 149	55 F L	905 149 11. 44	935 149 736 -15	727 -148 3941	2095 -149 -6	3370 - -150 3549	1261 -149 -6 .	. 149 -149 -1 -1	-874 -149 -357 -149 -536 -
	5	₩ <del>7</del>	5	무도 :	<b>=</b> 7	47	7	₹ 1 °1	ጉ ' ጉ	. 9	m · ·	4 . 4		<b>ω</b> , ,	~
		60 44 ' '	ທີ່ ຜ	9	67	8		5 2		7	~	7	7	7	7

•

	٠.		•								•			-	• •	
	83	83	. 48	8	<b></b>	, B	9	92	.8	94	<b>.</b>	96	16	8	66	
	3580	3359	-139	-2661 -250	-2771	1485	1812 -249	4584	249	4039	53.	236	-1166 -249	-249	1464 -249	••••
	4253 -294	4032	-3635	.2967 -295	3453	1903	-294 -294	4919 -294	-294 -294	-29-	-4076 -294	-3938 -294	-294	-294 -294	-294	
	-571 -369	.3452 -369	Ī	-2556 -	-2887 -369	1180 -369	-490 -369	209	. 1911 -369	-369	-273	2082 -369	658 -369	872 -369	-1085 -369	
	-2565 117	-926 -: 117	•	1559 -	-253 - 117	229	-545 117	4829	-525 -	-3857 117	-1632 117	117	1115	898 117	-235	٠
<i>:</i> :	2514 -: 359	-830 359	1907 359	•	-1682 359	-1179 359	-541 359		-1539 359	4518 359	359	4296 359	-1669 359	-592 359	-2982 359	
	2358 96	450 86	-1710 96	•	112 96	. 3388 96	1884 96	-6337 -96	-337 96	4969 96	2679 96	4765 96	96	342 96	80 90	
	1812 -: 45	-1588			490 45	1816 - 45	238 45		-532 45	4757	-1131 45	4582	-601 45	-2241 . 45	-938 45	
	. 1160 394	-3471		2398 393	-2864 394	4131 394	4480 394	6634 394	4173 394	.5458 394	4533 394	-5237 394	-4207 394	-1471 394	1911 394	
	877			•	•	-		•	•	4990 .	-1006 275	4850	-893 275	798 275	922 275	
	-3153 -720	٠.						•			120 -	1877	-3532 -720	-3585 -720	-3651 -720	2
	1437		•	•	•		•		-252 -466	-1692 -466	-893 -466	280 466	-1771	-2336 -466	4575	
	210	•	•	•			636	6490 210	2534	-837 210	356 210	4960 210	738 210	-2283 210	-621 -210	apella
	1448		•				4547					2161 -626	-140 -626	• 650 • 626	-1718 -626	
	•	•	•	106 -37 -1286 -	•	•	•		•		1378 3193 106	1378 4093 106	1378 2442 106	1378 1139 106	-2623 1013 106 ~	
	116 2														-256 473 399 -701	
	364 1	•													-1115 -1166 -381 -1115	
															305 43 43 43	
															-12014 1178 233 -6015	
	139	500 4882 335	500 207 1-1	500 720 189	501 761 -2 1267	500 1452 -10 582	500 259 i1 <sup>.</sup> 272	500 523 -1:	-500 1023 -1: 1545 <sub>1 -1</sub> :	-500. 1023 -1. 3714 - 1.	8 <u>84</u> 8	-500 1623 -1 182 -1	55 856 4.	4492 .	-506- -653 -500 -500 -11023	_
															-148 -166 -149 -73 -1	
	Ŧ	•	. , , , ,					. 4				0	T			
	7 9	, , 6	9 6			4				, , ,		່ ີ ຫ	6	ற	σ	

.

100	101	102	103	104	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	
596 -249	, 326 .249	-3490	1665 -249	2597 -255	-2336	-5952 -249	-2314	1672 -249	1694	422	-249	-960	579 -249	1188	
858 -294	3290	-294	-3297	-3460	-3010	-6723 -294	-2901	1867 -294	-3033	-3396 -294	1747	2895	-4527 -294	2426	
-4174 -369	-3014 -369	-3687 -369	-2730	-2876 -364	-369	-5843 -369	40 -369	-2712 -369	-164 -369	354 -369	651 -369	-36 -369	885 369	979 -369	
-1359 117	-1862 117	-2688 117	1287	-1592 117	-1317 117	-238 117	-1485 117	-1671 117	-1768 117	-1882 117	-1341	369	-317 117	-1548 117	
843 359	-519 359	1632 359	-1531 359	-1329 364	-1265 359	491 359	87 359	-213 359	-1850 359	359	-904 359	68 359	-958 359	-2068 359	
-1193 96	-1644 95	-2648 96	-1372 96	-1653 90	180 96	-955 96	-1401 96	2944 96	-17 96	-1759 96	-1285 96	-224 96	1137 96	-1295 96	
-798 45	777 45	-1914 45	700 45	-619 42	1522 45	-467 45	1275 45	625 45	382 45	-1211 45	1076 45	971 45	-2398 45	4178 45	
-510 394	1197 394	3097 394	-2717 394	-2265 388	-2450 394	-5159 394	-2677 394	-2803 394	-2999 394	-3039 394	1944 394	4047 394	942 394	4921 394	
1595 275	165 275	170 275	-1260 275	1657 274	420 275	-3559 275	1005 275	-1366 275	348 275	2387 275	317 275	894 275	1040 275	4458 275	
-3641	-2483 -720	-3279 -720	-2201 -720	-2473 -726	-1912 -720	-5824 -720	1100 -720	-2201 -720	-1872 -720	-2267 -720	-3460 -720	-3514 -720	430 -720	-2395	6/8
4568 466	-1191 -466	-4097 -466	-3125 -466	-3273 -470	-799 -466	-6569 -466	-66 -466	-905 466	-2661 -466	-3119 -466	-1665 -466	-114 -466	-102 -466	1289	e 3, Blatt 8/9
482 210	1102 210	-2097 210	424 210	-969 -210	1001 210	4334 210	-928 -210	293 210	187 210	-1269 210	-1170 210	758 210	1499 210	4523 210	Tabelle
-4623 -626	-3462 -626	4084	-3174 -626	-3362 -629	-2870 -626	-6619 -626	-2470 -626	-3113 -626	-2494 -626	489 -626	* -809 -626	874 -626	-949 -626	-72 -626 -626	
•	7 =					•		-	-		·		-	-634 -297 106 -2168	
753 399	-1381 -2897 399	-5359 -3320 399	-5443 -2623 399	-5540 -1860 401	-2398 -2357 399	-776 3521 399	-2587 -2587 399	-4056 -2715 399	-3745 -2914 399	-3895 -2937 399	-193 -1006 399	-2658 -3955 399	-1620 399	-1491 4869 399 -363	
.385 .381	-1115 -3713 -381	-1115 1263 -381	-1115 424 -381	-1115 -3526 -376	-93 -3128 -381	-1115 -6758 -381	-1115 -2810 -381	-1115 -3394 -381	3110 3110 -381	-1115 -3366 -381	-1115 -1270 -381	-115 -4731 -381	-1115 -1688 -381	-1115 588 -381 -1115	
-686 43	-894 -208 43	8g 2 € 45 £	-894 1845 43	-894 1841 38	4002 1857 43	-894 -3281 43	-894 -1022 43	-894 -1072 43	-89. 181. 43.	88 89 85 85	-894 1666 43	\$ 65 55 54	-894 -578 43	-894 485 43 -894	
1435	-718 -409 233	-3326 -1734 233	-2885 230 233	-517 2505 238	-2137 -1238 233	-9958 -645 233	-710 -33	-10146 318 233	-10302 -1979 233	-10481 2145 233	-10609 -2912 233	-5643 150 233	-11927 -1522 233	-12038 1900 233 -6189	
-4552 -500	-11001 -3393 -500	-9651 -4027 -500	-9501 -3111 -500	-9292 -3278 -505	-1217 1118 -500	-8916 -5377 -500	-10466 -2628 -500	-9104 -3101:	-9260 1786 -500	-9439 -3147	-9567 -4357 -500	-10913 -4422 -500	-10885 -192 -500	-10996 -3194 -500 -10996	
-17	-1352 990 -149	-154 -2694 -149	-212 590 -149	-1738 763 -143	-1546 924 -149	4244	-1366 -1545 -149	-4- -1738 -149	-1830 -149	2 4 5 2 6 6 4 5	-645 -645 -645	-30 -1173 -149	-1 -3107 -149	3341 -149 -21	
4 4	 	. 9 6	. 6	. 80 .	, თ , თ	. 0 0	101	102	103	104	6	. 9 0	10 7	. 60	

132	133	134	135	136	137	138	139	140	<del>1</del>	142	43	4		
3839 -249	540	7065	1076	4259	6720 -249	-3916 -249	1981 -249	123	-101	-3807	-3812	-3803		•
4396	4346	-294	-294	3313	-6964	-294	4725	-3630	4721	-294 -294	793	-4481	<del></del>	
-369	530	-6356 -369	-4174 -369	-4009 -369	-5531 -369	-1581 -369	-819 -369	1867 -369	1511 -369	1049	-3933 -369	. 451		
302	117	-1693	-1326 117	4716	-764 117	1002	-3012	-536	847	-1010	-1349	-851		
-865 359	-280 359	436 359	-3761 359	-5268 359	211 359.	-3071 359	165 359	359	926 359	844 359	-74 359	781		
1231 96	-546 96	-6607 96	62 96	677- 96	-6130 96	1741 96	-156 96	-4450 96	-2798 96	98	2020 96	-621		
-851			-978 45	-5379 45	733	-1065 45	-1025 45	-323 45	474	482 45	-2011 45	131		
385			3834 394	-6164 394	-5611	956 394	4141	4943	308	394	•			
-2962	2/5 -1173 -275	4536 275	-3528 275	634	-1234	-165 275	225	4539	4 4 6	-2448 -2448	2127	2 23*		
	-720 -3176 ·		-3786 -3786	ន្ត	-5828	.3377 -3377	-3630	F 15	-3626	-7.18 -7.18	-3401 -3401		t	6/6
837	-466 1062	-466 -7537	4555	-2040	67.10 67.10	-2413	-2223	303	4549	-466 -318	48 -1- 48 -1-		•	alle 3. Blatt 9/9
1662 ·	210	210	210	210	210	2314	453	210 4650	2291	321	_	••	• •	Tohol
•	-	-626 -7459	•	•	-	-626 -1803	•	•	•		•.	-626 * -4352		
-2903	106 -1984 -2964	106 -1378 -5445	106 -1378 -3382	106 -1378 -3987	106 -1378 -5868	106 -1378 -141	106 -1378 -2707	106 -1378 -3764	106 -1378 368	106 -1378 -259	106 -1378 -2471	106 -1378 -2474		
	399 420 4269	399 -701 -1661	399 -701 -4730	399 -701 -779	399 -701 540	399 -701 4149	399 -701	389 -704	399 -701	399 -701 789	399 -701	399		
	-4244 -381 -1115	-381 -1115 -7555	-381 -1115 -4813	-381 -1115 582	-381 -1115 -730	-381 -1115 1616	-381	-115	-381 -1115	-381 -1115 	-381 -1115	.381 -115	,	
	-1038 -894 -894	-894 -894 543	43 -894	43 43 43 43 43 43	-894 43	6436 894 777	4 8	8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	200 24 89 6	4.89.79	,	, 4 & 8	<b>\$</b>	
	-3254 233 12046	233 12065 12065	233 12065	233 12065	233 -12065	-6209 233 -12036	233 -12036	233 -12036	-5691 233 -12036	233 1773	233	1550 233 -11773	13	
	-500 -500 11003	-4030 -500 11023	-5414 -500 11023	4585 -500 -11023	424 664 1023	4607 10994	4234 -500- -10994	-4540 -500 -10994	976 -500 -10994	453 -504 -1073 -1073	-5073.	-431 -50-	. 429	
	-149 -49	1344 -149 -1	-4562 -149 -1	375 -149 -1	-4784 -149 -1	3042	-1554 -149 -1	1683 -149 -1	435 -149 -1	116 -149 -1	89 -149	-2839 -149 -1	-283	
	<b>ө</b>	<del>.</del>	= · ·	112	11 3	414	#	9	11 7	11 8	6	12 0	12 1	•

Tabelle 3, Blatt 9/9

											~		~		ന		<b>q</b>	٠,		_		
								-844	>	-	-3593	-249	-282	-249	2755	647-	-2821 -249	-3593	-249	328 -249		
							·	-1988 -1		- · >		-294	-3182	-294	-3167	462-1	3163 -294	4276	-294	4184 -294		
·												-369	•	-369	317		1419 -369		-369	3408	}	
								384	•	>	, ,			117	516		1224		11.	-2901		
			•					207		-										•		
								123	2	ဟ	•	339	1684	329	-3516	359	-1376	Š	359	1729		
								,	<b>4</b> Ū	œ		-723 96	9000	96	3988	96	-3982	8	1650 96	2651	88	
									213	σ		3256 45		-3820 45	2811		-3804	54	1554 45	-2392	45	
									Ş	0.		-3686 394	3	4488 394	1011	384	2650		.954 394	Y		
									-142	z		-2229	7	-883 275		4078 275	4071	275	-743 275	-2815	275	
									-1085	Z		-3181	3)-	-1917	3	1689 -720	688	-720	-3182	3045	-720	132
									- 206	_	ı	4108		522	4 0	444	5	466	4109	g d	86	, Blatt 1
									249 (	<b>Y</b>	9E	_	5. •	4195	210	4188	2 * 5	54 249	8,5	21.	210	Tabelle 4, Blatt 1/32
00128)								4	197 2		두			3045		1011		28 28		* -626	-3669 -626	
ine (PF (								-8455	1158 1		р ф->ф							3297 106			-2739 106	-1378
ie Domä								4 \$		Ī	8										851 399	
-Amylas								72		r	<u>ა</u> გი						-381 -1115				-4039 -381	
Alpha-								-8455		-7.94	u											
Pfam								-1000		338	ш.2		8 8 8	-894	54	-894 -4593	-894 -894	4585	-894 484	5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4 5 4	7	7
A för die	-			D.ann s.ann				1000		82	0 7	5356	233	-5739	233	-11500	233	-5221	-11527	233	-3114 -3134	-11527
Se HMN	domaii			IN SEE						8 8	•	-	4092	_	-2711 -500	•	,	-2705			- 3803 - 3803	
ap Gun	italytic			M_Is.ar	-	-			-8455	-1558	0.55		1		•					- 149 - 149 - 149		
Erstell	ase, ca			F HMN ates(			<b>-</b> -		ģ 5	695	021 V	E^E 8-	-1605	-74 -78	-2887	•	-1209 -149	7	77	φ 7	4	7
: abelle 4 Angaben zur Erstellung des HMM für die Pfam Alpha-Amylase Domäne (PF 00128)	2.0 [2.3.1] alpha-amylase PF00128 Alpha amylase, catalytic domain	464 Amino		yes hmmbuild -F HMM_is.ann SEED.ann hmmcalibrateseed 0 HMM_Is.ann	-4	2797	-82.0 -82.0 -81.7 -81.7	-82.7 -82.7			-218.894150 U. 1550250		-		7	• •	ო ,	٠ 4		ı û	, ω	• •
4 Anga		Ani 464	2 2	yes Fig. 1	<b>3</b> 2	• •	<b></b> ማ	ማ			•											
abelle.	MMER AME CC ESC	L PH C	÷ %-	A SO S	SEO	DATE	85	일	7	SCE.	EVD EMM		· · <b>-</b>		- <i>-</i>	-			<b></b>	·-··		

	ω	თ	9	Ξ.	2 .	5	<b>4</b>	15	9	. 4	9	۲,	23	23	
-3409 -249	1332 -249	-3210 -249	686 -249	-169 -249	-3242 -249	-3279 -249	-3266 -249	-249	822 -249	-2237 -250	-1714 -247	2020 -249 -	2948 -249	-5570	
42-4- 29-4- 29-4-	4275 -294	4434 -294	3874	-2868	1820	-3961	-3940	-4846 -294	-3081	-2919 -295	-2362	-294 -294	3621	5743	
- 3568 -369	.1924 -369	-3332 -369	3313	-925 -369	-893 -369	-3398	-963	-369	-2523 -369	-2356	187 -367	-1532 -369	-1631 -369	-5961 -369	
-4659 -117	-68 -	-500 -	-208	-195	1384	587 117	-130 117	3056	329 117	635 116	1192 <sup>-</sup> 117	-1094 117	-1276	117	
4986 359	119 359	-673 359	-222 359	-35 359	1520 359	1690 359	-2195 359	458 359	-1313 359	1298 358	1266 359	1211 359	-1376 359	359	
-6161 -96	382 96	1149 96	170 96	-2232 96	688- 96	669 86	-2039 96	2969 96	43 96	656 95	-576 97	-1099 96	1164 86	<del>4</del> 8	
.5797 - 45	544 45	-1408 45	226 45	-1695 45	-1519 45	-1479 45	463 45	102 45	970 · 45	1050 44	-31 45	-661 45	-787 45	4302	
-6017	3686 394	3300	3285 394	-3528 394	394	-671 394	-3381 394	-3945 394	2468 394	318 393	-1889 393	394	-2490 394	-5444 394	
5813	•	•	504 275	654 275	-232 275	1965 275	2669 275	1868 275	1351 275	-875 276	1334 275	-983 275	-1188 275	-4630 275	
3124		-2800 -720	-2780 -720	-489 -720	-2794 -720	-2866 -720	-2841 -720	-3801	-1990 -720	-1825 -721	-1251 -721	-1184 -720	-1264 -720	-5801 -720	32
.1435	4107 466	-3725 -466	-3707 -466	-919 466	-3694 -466	-916 466	-1468 -466	4670	-2915 -466	-1002	-2136 -464	-1890 -466	-1991 -466	-6413 -466	l, Blatt 2/32
-6493	1059	229	799	-1746	862 210	. 123 210	276	2381	551	479	-79 211	- 717- 210	-820 210	-3624 - 210	Tabelle 4,
-946		-3781 -626	-3763	-3520	-873	-948 -626	-181	-020 -4742 -626	.2970 -2970	-2804 -627	-2122 -2122 -623	• -1776 -626	-1843 -626	-6660 -626	
4848	-1378 301	-1378 -1867 -1867	- <del>1</del> 68 5	-2316 -2112	-161- -186-	-133 -133 -133	15. 15. 15. 15. 15.	-2603 -2603	8 6 6	5 8 8 5	268 55 55	-38 2497 106	-163 -778-	-92 106 -73	
-1492	399 -3593	-701 -3204	2378 2378	-323 -1144	3240 -3303	-3527 -3280	-3527 1478	389 -3527 -3666	3928 -2404 -2404	4922 1	-5023 -1787 398	-5259 -2079	-3229 -2393 399	3702 399 4348	<u>!</u>
4401	-381 -1115 -4412	-381 -4115 -4030	-38- -4012	-381 -1115 -3837	-381 -1115 -3978	-1115 -4097	-361 -4055	-381 -1115 -4951	-3225 -3222	-1115 -3055	-5562 -2409 -381	-5313	-115 -1511	-115 -116 -381 -381 -381	-
														-894 -4756 -43 -43	
														- 233 - 4752 - 233 - 233	
4497	-500 -4092	-500 -10485 -3710	-500 -3691 -3691	-500 -10013 -3619	-500 -10204 -3694	-500 -10119 -3777	-500 -10119 669	-500 -10119 -4662	-500 -9955 -2900	-500 -8976 -2735	-501 -996 -2136	-300 -442 -1851	-500 -7715 -2091	-500 -5007 -5007	029-
-14E0	-149 -1-	-149 -774 -	-149 -2 · -754	-149 -283 -2420	-149 -87 -1036	-149 -1310	-149 -2309	-149 -166 507	-149 -983 -1432	-149 -224 347	-150 -3921 -806	-149 -3106 -1101	-149 -56 -58	-149 -4548 -149	-923
	- , , 00	, , თ	6	=	2	. ' <del></del>	' ' 4	: , , 42	6	٤,, ٢	. , ∞	'.' <del>6</del>	8	2 .	•

24	;	52	ç	7	•	88		53		30	:	;	35		5	3		38			9			₽.		. 42	!	:	4		53		;	54			
-2247	647-	-1803 -248		-2101 -249	1	-2175 749	8 <del>4</del> 7-	1661	-249	4080	-251		-2149	-249	000	277	147-	.4985	250	3	-3935	-249		-2033	-249	3000	-244	•	-1901	-236	-1390	-249		-1660	-249		
2927 1 -2		.2316 -296		-2655   - -294		2230		2434	-294		-296 -296		-2820	-294		4088 600 600	797-	- 2	-414-	-	406B	-294		-2686	294		-2/73 [295	_	-2579	-297	1704	-294		3129	-294	-	
•	698-	.479 -:	_	22e 369		-2295	-369	•	-369		0/8 0/8 1-		-2235	-369		-1562	-370	9	7512-	9	2700	98.2-	3	-1990	-369		-2187	5	-1956	-372	6	586	<b>}</b>	-1730	-369		
۲۰	117	- 1299		1252			117	·	117	1		1	-1140	117		-1145	116		-972	117	3	1581	<u>:</u>	1554	117		-1019	=	-836	121	Š	4 5 5 7	=	-674	117		
1244 -1	329	.1294		•	ñ	525	329	1220	326	}	8 8	200	43	359		-1254	358		-835	328		-1512	200	100	329		-878	909 909	1096	357	1	1463	200	-628	329		
•	96	-1242		-1296	S	-929	96		- 95 - 95		1181	ŝ	020	95	3	2066	95		1044	95		-3258	8	CHO	06 86	3	606-	92	1666	8		-1420	9	407	8		•
452	45	-742			5	1628	45		536-		-504	4	2011	50 45	?	-520	4	:	-116	45		-3088	45	Ş	-339	?	2872	45	113	43		-1077	45		8 4		
	394	455	395	508	394	2264	394		-2381	đ Đ.	-2320	394		-2269	400	2243	395	2	1442	393		3791	394		-2035	r D	-1948	393	1001	7981-	}	1812	394	į	-1794 394		
	275 275	774	276	-1168	275	620	275 275	i	<b>2</b>	275	1155	276		2015	275	677	976	7/0	-283	278	ì	-2515	275		1798	2/5	1280	275	į	-373	23	-1214	275	ľ	1410 275	i	
6	720 -720	1134	-722	•	-720		-1765 -720	1	1632	-720	-1446	-722		-1720	-720	Š	-1201	77)-	4574	10.4	77	-3211	-720		-1592	-720	1721	-721		-1509	57)-		-720		-1225		3/32
	2756 - -466		465	. 2307	466		.2689 .466	3	-2062	-466	751	467		-360	466		-1896	465		0007-	8	3965	466	}	-2454	466	2880	466		-2392	466	1183	198		-2120	<b>3</b> . ₹	abelle 4, Blatt 3/32
	674 210	* 14 * 12	24	•	2 2 2 2 3 3 3		420	217	-69 <sub>4</sub>	210	• (	25	•	433	210	•	-73	509		-256	211	2204	210	*	44	210	• [	243	*	-193	211	1245	210	*	1304	210	Tabelle
	.2808 .626 ·	* 8	-628 -628			•	-2742	-626 •	-1897	-626	• 6	200		315				-627		•	-627	• 000	•		•	-626		-2639		٠,	-629		2029		-2139		
	1540	54	5 5 5	8	141 16	3 4	-833	106	-989-	106	4	1886	<u> </u>	1 P	92	4	-762	\$	-112	-540	105	<b>\$</b>	-3114	3 2	-37	108	-76	- - - - - - - - - - - - - - - - - - -	3 %	-538	103	-75	-1139	5 5	-358	106 44	<b>†</b>
	-55	5017	2349 397	5076	5 6	5076	1087	339	50/6	368	-5076	-2231	397	2174	300	-5076	1555	397	-3740	-1663	398	4191	-2079	399	-5295 4787	366	4278	-1686	398	1500	403	-4299	-1561	399	-1688 -1688	399	-1998
	1125	-381 -1115 -	714	6287	2512	-381	2992	-381	113	7 2	-1115	-2518	-382	-6287	4767-	1115	1714	-382	433	-2841	-381	-5016	-3951	-381	-1115	20.7	-1115	-2866	-381	2000 2000 2000 2000 2000	-383	-204	-1367	-38	-2414	-381	-1115
	-578	-89 43	-929	4. 19	-932	5 8	871 871	43	-834	288	894	-652	4	<del>6</del> ;	352	3 5	400	991-	1047	1847	<u> </u>	45	-3276	€	-89- 1	88°	-89 5 5 5	15	<b>₫</b> :	<b>\$</b> F	. 4	-2921	-1375	4	4894 22,24	4	<b>8</b>
	752	233 3303	783	232 9662	1203	233	9662 235	233	-9662	793	-9662	576	235	-9662	<del>1833</del>	233	င် ကို	-165/	200	1 950	3 2	-8490	-3073	233	-8783	55	1643	1220	232	-8527	225	-1269	-1748	233	-8164	5 8	-8743
	2742	-500	1981	1951 1971	2213	-20	. 8620 2674	-500	-8620	2805	200	2653	-501	-111	-2624	-200	-8620	-1761	ဉ် ပို	) (2)	25040	000- 1967	1857	200	-774	-2196	9 2 2 2 3	-2549	-500	-255	-2187	1232	- - - - - - - - - -	-500	-7122	22.5	-7701
	740	-149	193	-148	1491	-149	ילי ני	2021-	, r	-1213	-149 -	330	-150	-3784	ဇ္	-149	-1468	-1168	-150	-2331	-1006	2642	4272	149	우	1795	6-1	1019	-146	-2649	\$ 5	-151-	46. 46.	4.	Ť	\$ 4	7
	22		, ജ	,	. 78	i .	. :	52		56		. 2	; ;		28		•	53	•	•	ල	•	, ?	5	, ,	35	•	, %	3.	,	34	•	, r	8.	•	S	. •

-249 3735 -249 -249 -294 -294 1284 -294 294 -294 4265 -294 -294 -294 .584 294 -294 -2<del>2</del>2 -294 -294 -294 -369 -369 -369 -915 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 117 -2558 117 117 117 -85 117 117 -823 117 117 359 359 359 359 359 359 359 359 359 359 88 96 96 96 96 96 96 96 96 96 45 1818 45 -108 45 -6118 45 2327 45 45 45 .3831 45 45 45 45 394 394 394 1010 394 394 8 8 394 394 394 394 394 275 275 275 275 275 275 275 275 275 275 275 -720 25 26 26 26 26 26 -384 -726 .3181 -720 -817 -720 .1368 -720 -720 -720 -720 720 -720 -720 106 -99 106 -99 106 -1251 106 -54 -2237 106 -757 413 106 -1378 -3325 106 -1378 -3325 106 -1378 -1 -1680 -894 -894 -894 -894 -6279 -894 -6279 -6279 -6279 -638 -6490 -6 1080
233
-9995
660
233
10089
1094
233
10272
-6105
-6105
233
10272
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233
11527
233 -149 -149 -1602 -149

20	7	74	75	92	12	88	87	88	88	6	91	95	8	46
-2850 -249	-3593 -252	4195 -249	-5384 -249	-3595 -249	-3595 -250	-2867 -249	-6696 -249	2078 -249	-3828 -249	69 -249	-6228 -249	2050	-5137 -249	-4145 -249
866 -294	4275	3633	897	4277	4278	863 -294	7108 -294	3252 -294 I	4510 294	-3379 -294	-6741 -294	-294	-5182 -294	-294
-2167 -369	-714 -4 -372 -	.1236 -3 -369	-1773 -369	-1108 -	-3717 -	-2194 -369	-6340 -369	2155 - -369	-3919 ·	348 -369	2423	-6021 -369	. 1290 -369	-3381 -369
-2804 -	40 119	-171	117	52 117	-386 118	-1516 117	4961	472	2930 117	-151 117	-170 117	-6602	-217 117	1511
359	360	-1575 359	-7629 359	-1596 359	378 360	-3401 359	-4650 359	-3598 359	-250 359	-520 359	-6742 359	-6378 359	-6294 359	2681 359
-3835 -96	-851 95	-2913 96	-7081 96	-2342 96	-1051 95	-3763 96	-5877 96	-4070 96	-2610 96	-3437 96	-7338 96	-5787 96	-6450 96	-4625 96
64 45	-97 46	-872 45	-6330 45	929 45	435	-3501 45	-140 45	-3893 45	-2038 45	-533 45	-7112 45	1984 45	-6001 45	-4323 45
4423 394	699 393	4014 394	-7194 394	-3689 394	1224 393	4397 394	-5670 394	4557 394	-3879 394	4268 394	-7060 394	-7002 394	-6641 394	1518 394
-3894 -	840 275	-1139 · 275	-7944 275	74 275	1061 279	-1246 275	-1046	4156 275	1252 275	3423	-7004 275	-5711 275	-6732 275	233 275
273 -		.2430 -720			-3184 -721	2191	-6605	-132 -720	466	176	-3597	-5291 -720	1608	783 -720
-466			2680	4109	411	2098	-7311 466	-2606 -466	4333	-2818 -466	141	-1756 -466	2037	4592 -1531 210 -466 abelle 4, Blatt 5/32
1076	•		-7642	2745	145	225	5436	4267	466	-3255	-7153	- 6009 - 6009	-6715	4592 210 . *
695	-1864 -230	. 994 . 994	2396	4164	4167	8 8	-7338	2081	4376	-626 -2494 -2494	3081	-5897 -5892	2298	-929 -3617 -626
145	-1378 -2252	-1378 -591	-1378 -6742	106 1378 830	-1378 -2254	-1378 -1378 560	-1378 -5181	106 -1378 -3389	-1378 -2487	106 -1378 1204	-1378 -7445	106 -1378 -3585	-1378 -6044	-1378 -4173 -4173 106 -1378
4369	-1-52 172 172 173 173 173 173 173 173 173 173 173 173	-707- -1425 -1425	-701 -8240	389 107- 570	386 70- 70-	85- <del>4</del>	399 -701 3748	399 -701 4510	.707- 555	98 - 4 <u>1</u>	.707- -7349	399 -765 -7663	399 -707-	389 -701 -4330 399 -701
-2710	-381 -1115 -4413	-383 -2304 -1049	-381 -1115 174	381 -115 444	-381 -1115 -4416	-381 -223 -2738	-381 -1115 -7234	-381 -1115 1996	-381 -1115 -4626	-381 -1115 -2940	-381 -1115 -4920	-381 -1115 -2190	-381 -115 122	-381 -1115 -4047 -381 -1115
4242	894 545	43 -327 -1552	43 -894 -7836	43 -894 -714	43 -894 794	-2807 -4088	43 -894 -4255	43 -1394 -1394	43 -894 -2113	43 -894 -3461	43 -894 -7167	43 -894 -528	43 -894 -6959	43 -894 -4848 43 -894
428	233 11527 2782	240 11527 702	233 11527 -8423	233 11527 -2468	233 11527. 1980	234 -11527 1042	233 -11527 -3869	233 -11527 -5299	233 -11527 1152	233 -11527 -4036	233 -11527 -7476	233 -11527 -6657	233 -11527 -7496	233 5 -11527 2 -5290 0 233 5 -11527
2795	-500 10485 -4092	-502 -1590 -3261	-500 10485 -5426	-500 -10485 -4094	-500 -10485 -4095	-501 -5599 -2775	-500 -10485 -5401	-500 -10485 -2769	-500 -10485 -4233	-500 -10485 -2941	-500 -10485 -4256	-500- -10486- -5976-	-1048; 458; 458;	-506 -1048 -1048 -1048
78	-149	-150 -583 -2739	-149 -1 -	-149	-149	-150 -31 947	-149	-149 -1-	-149	-149 -149 -1	-149	-149 -1 -1	-149 -1 -5029	-149 -1 -1269 -149 -1
22	2	3 45	; , , <del>u</del>	, , <u>, , , , , , , , , , , , , , , , , </u>	86	, , Q	o	, . G	8 8	ē., 8	3 8	38	3 , , 2	8

92	96	97	86	66 66	<b>6</b>	5	\$	105	106	107	108	905	110	<b>1</b> .	
-6836 -249	-5492	2169	-3593 -249	-2498 -249	-1765 -249	1085 -251	-1367 -249	-2668 -249	-2835	1105	-3574	648 -249	-1910 -251	1044	
-294 -294	.5951 -294	1665	-294 -294	-3163	-2099	-2988 -296 -296	3508	-3260	-3462 -294	4106	-4245 -294	4014	-2554 -296	-2562	
-1240 -369	1900 -369	526 -369	-1818	-183 -369	1248	-2416 -371	862 -369	402	1437 -369	-28	-1532 -369	-3453 -369	578 -371	-1846 -369	
4047	4483	-28 117	-537	323 117	-1732 117	8 <del>2</del> 5	1170	1132	-801	-322	170	-568 117	-940 116	-1123 117	
-3825 359	-5945 359	-303 359	-1385 359	-1453 359	-2432 359	949 362	-2013 359	489 359	-396 359	2571 359	-326 359	479 359	692 359	928 359	
-5963 -96	-6620 96	-3968 96	-152 96	-1307 96	-2846 96	-1076 94	-2446 96	-1733 96	-1766 96	-2452 96	-2358 96	-2079 96	725 . 95	-1029 96	
509 45	-6423 45	618 45	799 45	2129 45	1633 45	-527 46	-2239 45	-1204 45	334 45	969 45	248 45	1738 45	255 4	499 45	
4130 394	2571 394	-4470 394	-352 394	-2633 394	-3380 394	1707 392	-2982 394	-190 394	.899 394	-3755 394	2730 394	-888 394	-2082 396	572 394	
-5051 275	-6403 275	1332	-601	2667 275	-2943 275	1536. 276	2323	570	952	-2348 275	-540 275	1724 275	798 274	1037 275	•
-5889 -720	-3454 -720	-1911 -720	4 5	-2060	-718 -720	-1891	435	164	-2338 -720	67	-3144 -720	1961 -720	-1448	1556 -720	32
-6774	-3617	-639 466	-2213 -466	-2964 466	1010	-2811	643 466	-2950 466	-1745 -466	-3834 466	-1959 -466	-1529 -466	-2336	-2254 -466	, Blatt 6/32
6122	-6592	4156	1661	-803 -050	893	570	-2581	-1258	424	-740 -740 210	-903	325	2146	-553 -553 210	Tabelle 4,
-6474	2424	\$77- 377-	4164 4164 626.	-2981	1966	-2855	360	186	437	-3769 -3769	-1615 -626	3903	-2329	-2151 -626	
5862 .	1378 6322 108	1378 3289	1378 326 326	1378 1983 1983	-51 -2215 -2215	24 th	4 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-647 2621	-220 -1655	-5023 -2337	-1378 -547	-1378 99	-152 1916	4 6 6	-225
4440		459 104 104 104 104 104 104 104 104 104 104	.3593 -3593	285 285 285 385	4835 -3348	4936 -2321	389 -4977 -2933	-1469 	-2824 700 700	8 4 6	-701 1882	. 596 596 596	-3323 -1985	38 <del>48</del> 88	-2793
6753	434	-381 -1115 2792	4413 4413	-381 -1115 -3251	-381 -1115 867	-381 -1115 -238	-382 -3232 -1199	-381 -1115 -3181	-381 -1115 -3461	-381 -1115 -4084	-361 -1115 -4352	-1115 -4152	-361 -1115 -2616	300 300 381	-1115
														455- 558- 548- 543-	
														239 -9309 1350 233	
6199	-500 0485 -1 4065 -	-500 0485 -1 2708	-500 10485 -1 4092	-500 10485 1519	-500 -9133 -1625	-500 -8949 -2799	-501 -346 -1247	-500 -8627 -2991	-500 -9564 -	-500 -9692 - -3860	-500 -4050 -4050	-500 -10485 -3831	-50 -50 -2330 -2330	-501 -369 -2294	-8597
1240 -	- 149 - 108 - 1- 1-	-149 -1 -1 -1405 -	-149 -1 -1	-149 -1356 -1 :1559	-149 -188 -1792	-149 -91 -1348	-147 -4027 -1398	-149 -5- 555	-149 -3 1379	-149 448 448	-149 -1 -	-149 -305 - -1428	-149 -1921 · 372	-150 -2157 1078	Pφ
														18	

115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	
586 -249	1312 -249	3646 -249	3879 -249	-3 <i>77</i> -249	-3593 -249	4874 -249	68 -249	-2821 -249	1751 -249	-6167 -249	4054	2168 -249	-3576 -249	-2770 -249	
-3117	3289	3835 - -294	3566 -294:	1896 -294	-4268 -294	-5332 -294	3763	294	-3990 -294	-7280	2046	.4268	4259	-3119	
.2555 - -369	-369	-971 -369	-1321 -369	-3356	-1529 -369	-8017 -369	-4791 -369	303 -369	665 -369	-6580 -369	-5902 -369	-1293 -369	-3698 -369	1299	
- 1401	1403	-2625 117	-1573 117	327	-2571 117	-7664 117	4588 117	1879	1253	-5057 117	-6877 117	117	-1214	-212	
1813 - 359	-1806 359	1681	4205 359	-2604 359	-221 359	-7573 359	4603 359	.3509 359	431 359	1074 359	-6653 359	-2503 359	493 359	359	
848 96	-1680 96	-2419 96	4784 96	-2483 96	835 96	-7762 96	-291 96	-3980 96	1137 96	•		687 96	•	-3795 96	
717	1771	-845 45	-3872 45	45	-1811 45	-7730 45	2387	-1144 45	801·	e?			7	Ÿ	
2523 394	892	-3744	.5163 394	-3773	340	-7408	-5620	1915	-3805						
1555	669 975	436	894 275	819	-2248	-7492	4314 2375	4068	-2438		•			•	
-2024	861	-723	4205	1397	-3172	757-	233	809	-2840				•	-120 -1867 -720	701)
-2949	-3004 -3004	4148	466	-1593	-466 -1785	-7590	4709	. 411	-1726 -1726	_		'		-466 -389 -466	rabelle 4, Blatt 1132
-675	210	210	210	210	210	210	210			•				-	Tabell
-3003	-626 -2923	. 1	-626 -4659	•	•	•	-			•	-626 -269	1			
1474	106 -456 -1560	106 -5194 -306	106 -1378 -3742	106 -1378 4033	106 -1378 230	106 -1378 -5966	106 -1378 143	106 -1378 -3296	106 -1378 285	106 -1378 -4283	106 -1378 -3629		•	106 1 -872 3 -3165 3 106 0 412	
	399 -1884 -482	399 40 1513	399 170-	399 -701	399 -701 2727	399 -701 -302	399 -701	399 157-	399 -701 -717	399	399 -701 -7404	399-701-	396	399 7 -438 1 399 5 -2010	
3253	-381 -1115	-381 -1115 4446	-381 -1115	-1115 -1115	-381 -1115 -4392	-381 -1115 -4839	-381 -1115 -286	-381 -1115 -1115	-381 -1115 -201	-381 -1115 -1115	-381 -1115	1	8 - 8 - 2 - 8	3 -381 4 -1115 7 1107 3 -381 4 -1115	<u>:</u> •
. 740	8 43	84 84 55 54 84 55 54 84 55	43 -894 -894	8 8 5	- 48 - 48 - 48 - 48	43 -894	- 43 - 89 - 43 - 43	48 48 48 48	4 8 8 8 8	8 4 8 8 8 4 8 8	-894 -894	4 99 9		3 43 1 -894 1 -1657 3 43 -894	<b>?</b> 7
Š	233 -10046	233 233 10582	233	233 233 -11527	-85 233 -11527	233 -11527	233 233 -11527	233 233 -11527	233 233 -11527	2718 233 241527	3602 233 -11527	- (33) - (152) - (152)	62 23 3 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	233 24571 2777 2777 2777 2777	<del>-</del>
·	-500 -500 9004	9240	4137 -500 -600 -600 -600 -600 -600 -600 -600	-4768 -500 10485	-3799 -500 10485	40/9 -500 10485	-6752 -500 -10485	-5065 -500 -500 -500 -500 -500 -500 -500	-27,05 -500 -10485	-3705 -1048	-1048 -1048	-599 -50- -1048	-1048	2 5 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-104
	146. 146. 14.	-149 -3	873 -149 -1	4176 -149 -1	-1132 149 -1	-1015 -149 -1	-7416 -149 -1	-4666 -149 -1	-285 -149 -1	482 -149	-4889 -149 -1	-148	-2620 -149 -2	E 4 6 8 4	-316
	83	æ	8	85	<b>8</b>		æ , ,	£	8 , ,	ъ.,	65	ge '. '	96 ' '	95	•

130	131	133	135	136	137	138	139	147	148	149	92	<u>2</u>	152	153
-2027 -249	-2538 -250	-3941	-2632 -249	207	-399 -249	-398 -249	3458	-8752 -249	-6141 -249	-3574	-3606 -249	-249	4244 -249	-3595
-2803	-2844	-3457 -295	-3068	1778	-294 -294	-294 -294	1011	-7448	-294	294	4289	294	-294 -294	4273
-2240	-3074	-3694 -370	2883 -369	-3455 -369	-3735 -369	-3694	-2996	-9303 -369	-5291 -369	-3663 -369	-3728 -369	-4156 -369	-3551 -369	-3708 -369
-1032 117	-2358	-2690 121	-1613 117	-987 117	1324	-327 117	-3702 116	-8516 117	2942 117	93	-943 117	267 117	-5012 117	-2566 117
-857 359	-2273 359	-2545 360	-3175 359	-2246 359	685 359	-2504 359	-972 358	-8693 359	512 359	-1552 359	-197 359	-2886 359	-6041 359	-2510 359
-923 96	-1363 96	-3496 96	-3705 - 96	96	11 98	1767 96	-1239 95	-8185° 96	-5305 96	1077 96	-2354 96	-2794 96	-6141 96	1456 96
1472 45	4302 45	-3435 45	-3484 45	415 45	-1812 45	1077 45	4509 44	-8612 45	-4557 45	-1811 -45	1321 45	1329 45	-5667 45	1839 45
-1882 394	-2844 393	-3114 393	-37:14 394	-753 394	2651 394	-914 394	-5245 393	-7614 394	-793 394	-3697 394	-3697 394	4021 394	-6457 394	394
2478 275	-1799 275	-3019	-3542	1923 275	-909 275	693 275	4706	-8451 275	2043 275	832 275	-1031 275	-2482 275	-6481 275	-2240 275
-1777 -720	-2741 -721	-3905	405	-204	-3203 -720	-611 -720	248 -721	-9067	-5526	2254	-695 -720	-3642 -720	660 -720	-3179 -720 32
-2629 -466	-3149 -466	4384	4 <del>8</del> 8 8 9 8 9 8 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 9	-3850 -466	4129 466	-2352 -466	656 467	-9145 -466	6428	260 466	4122 466	-1877	2094 466	-989 -466 Blatt 8/
-340 210	-1247	-3631	3640	-1579	-1854 210	1057	4991	-8750	4922	1377	-659	-288 210	-6508	2159 -989 - 210 - 466 - 1795 -
-2699 -626	-3343	4433	2486	-3903	4184	278	-3059	9779-	8315 8315	-1878	4178	4610	-2914 -626	
2013	-35 -1778 -	5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-35 -35 -35 -35 -35 -35 -35 -35 -35 -35	-2240 974 106	-3985 -2271	-1378 2594	-1378 -3425 105	-1378 -7830	-1378 -4820	-1378 -2265	-1378 -2263	-1378 -2619	-1378 -5376	-1378 -2260 106 -1378
-1582	-5364 -2426	330 -5394 3719	388 -5394 -3872	3339	9 <del>2</del> 8 8	-701- 1570 -1570	55 <del>8</del> 8	3865 3865	-707- -1350	-701 -2005 -2005	858 105 858 858	365	-701 -6860 -6860	3602 399 -701
-2897	-361 -1115 -2974	4439	-381 -4439 -1612	4154 4154	4433	115	2942 2942	-362 -247 -8738	-381 -1115 -6496	-1115 -574	-1115 -4427	-1115 -4847	-301 -1115 3516	349 -381 -381 -115
158	-894 -1655	-68 -3307	43 -3786	-894 -520 -520	5 4 68 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	234 25	-894 -5401	42 -2670 -8550	43.1	-894 1036	2 8 E	1602 1602	-894 -6835	. 43 . 43 . 894
1898	233 -2377 -1597	233 -7991 -3004	233 -7991 -4160	233 2901 2901	1128 534 534 538	233 -11527 . -2475	232 -5916 -5916	232 -11527 -8163	233 1704	. 233 -11527 8	233 -11527 1904	-11527 3047	-7421 -7421	233 -11527 921 233 -11527
-2634	-500 -7252 -2673	-595 -2447 -2447	-500 -387 -1179	-500 -5949 -3834	200 10186 1113	-500 -10485 -4076	-500 -10485 -3535	-501 -5149 -7162	-500 -10485 276	-50 -104 -4051	-10485 -10485 -106	-500 -10485 -4538	-10485 -1225 -1235 -13485 -134	-500 -10485 -4088 -500 -10485
													_	-149 -49 -49
26	86	, , සි	6	5		103	. ' 5	5		107	, ' <sub>0</sub>	60	. , 5	ξ

	154	155	156	157	158	159	160	161	26	165	166	167	168	169	170	
	-3593 -249	.5560 -249	-2869 -249	-3593 -249	-3593 -249	-2956 -249	-3626 -249	-3594 -250	1099 -249	-6213 -249	-6132 -249	-879 -249	4952 -249	2516 -249	-178 -249	
	4276 294	5316 294	3212	294	294	3290 -294	4310	4277	4211	7269 -294	-6437  -294	4297	-5359 -294	4941	-294	
_	3715 -4 -369	-1221 -5	2286 -3 -369	-1701	-709	-1125 -369	-3750 -	-3716 - -369	-301 -369	-6437 -369	1873 -369	-3743 -369	2891 -369	927 -369	1788 -369	
	790 -37 117 -3	5820 -12	987 2	225 -1 117 -	240 -	-120 -1 117	-2593 -3 117	-2560 -: 117	-3042	4937 -	4901	-2591 ·	-1543 117	4885	-868 117	
	1015 7 359 1	.7412 -58 359 1	. 696- 359 -	1104 359	-11	-3656 - 359	13382 359	607 -2 359	-3147 -4 359	-2007 359	-6879 359	-1594 -	.5571 - 359	- 6091 359	3518 359	
	947 10 96 3	•	·	434 11	1256 96	4122 -3	-370 96	-743 96	•	-5831 -2 96		1372 - 96	•	-6253 - 96	- 3990 96	
		122 -7056 45 96	5		-20 45	1	446 -:	1166 -	-2376 2 45			274 1	-	-5815 -1 45	-3812 -45	
	7 1276 4 45	မှ မ	20 -3853 34 45			ų			•					Ō		
	3687 5 394	3 -7137 5 394	7					•	•				•	•	•	
	1180	•			•	•					•		•	·		
	-3182 -720			٠,			•		•			•	-		1545 23	Blatt 9/32
	4109	2757	-612 -612	•	•		τ			•						
	466	-7602	4229	304	1260	4323			•	•			•			Tabelle 4,
	4165	,	-626	•	-		•	•	_		-626 3162	•		-626 -626 -626		
	231	-1378 -6821	106 -1378 -3348	106 -1378 843	106 -1378 -2252	106 -1378 -3442	106 -1378 4466	106 -1378 -2253	105 -1378 -455	106 -1378 -4350	106 -1378 -7387	106 -1378 -196	106 -1378 -5646	106 -1378 -5739	•	
	-3593	86.7- 105. 105. 105. 105. 105. 105. 105. 105.	399 -701 -4472	399 -701 -786	399 -701 -3593	399 -701 -4568	399 -701 -1262	399 -398 -398	398 -701 4168	399 -701 3376	399 -701 -7480	399 -701 -3625	399 -701 -6361	399 -701 -6889	399 -745 399 -701	
	4414	-381 -1115 -3477	-381 -1115 -2702	-381 -1115 -414	-381 -1115 44 i3	-381 -1115 741	-381 -1115 -778	-381 -1115 -4415	-381 -1015 4151	-381 -1115 -7197	-381 -1115 -4589	-381 -115 444	-381 -1115 -616	-381 -1115 -605	-381 -1115 719 -381	<u> </u>
	1072	43 -894 7805	43 4631	634 -634	43 -894 1390	43 -894 -4725	43 -729	43 -894 1669	43 -985	-894 -894	43 -894 -7267	43 -894 -1952	-894 -6365	43 -894 -6825	43 43 43 43	י י
	406	233 1527 8381	233 1527 5265	233 1527 1870	233	233 · 11527 5358	233 11527 -124	233 11527 122	235 11527	233	233 11527 -7600	233	233 233 -11527 -6830	233	233 233 233 233 233	17GLL-
	-60t	-500 3485 -1	-500 0485 -1	-500 0485 -1	- 500 - 500 - 1 1-	-500 -500 -585 	-500 -00485 -4128	-500 -500 -500 -500 -500	-500 -5386 -5386	-590 -500 10485	-500 -500 -10485 -4389	5005-	-500- -500-	-10485 -10485 -10485	-10485 -2711 -560	-10485
	564	149 149 149	. 45 - 45 46		\$ <del>4</del> - [	15/2 -149 -1 -1	-149 -1 -1	-149 -149 -1 -	-149 -35	8 <del>4</del> + 8	4722 -149 -1 -	149	-149 -149	-149	790 -149 -149	7
	112	·	≘ , , ₹	<u>.</u>	£ §	119	È.,	e	â	29	5 , 5	<u> </u>	2 2	ž š	125 - 126 - 126	•

7	172	173	174	175	176	177	178	179.	<b>8</b>	<del>2</del>	<b>2</b> 8	183	184	
-8581 -249	-324	-6084	427 -249	-8424	-7887 -249	-249	-6703 -249	1492	-3593 -249	560 -249	-3493 -249 :	1218 -249	750	-249
-294 -294	-3163 -294	-294	-294	-7395 -294	-7256 -294	-294 -294	6797 -294	140 294	4275 -294	4263	2949	294	2942	294
-9400 -369	2047	3649 -369	1465 -369	-9174 -369	-9493 -369	-2318 -369	-5159 -369	-1825 -369	-1325 -369	-1321 -369	-799 -369	-3487 -369	-2372 -369	-2193 -
-8607 117	-1213	-1808 117	117	-8336 117	-8931 117	2538 117	828 117	742 117	-1029 117	117	-699 117	887 1.17	-1225	-1103
-8688 359	-1769 359	-6521 359	-3541 359	-8424 359	-9272 359	359 359	2399 359	621 359	359	1029 359	-287 359	-328 359	-1150 359	-1014 359
-8076 96	3983 96	-7177 96	-4013 96	96. 96.	-8145 96	96	-6089. -86	-643 96	-903 96	-2346 96	-1129 . 96	96 96	864 96	96
-7951 45	-3806 45	-6970 45	-3835 45	-8282 45	-8576 -45	-3300 45	-5833 45	-1802 45	-7	385	-1753 45	-1587 45	443	-318 45
-7557 394	4476 394	-6944 394	394	-7552 394	-7683 394	4375 394	-5088 394	954 394	-3686 394	-3690 394	1318 394	480 394	-2307 394	-2136 394
-7636 275	4072	-6853 275	4101 275	4459 275	-8509 275	-3660 275	230	-505 275	366 275	437 275	-846 275	356 275	-805 275	1416 275
-9042 -720	-213 -720	-3609 -720	909 -720	-8951 -720	-9078 -720	3125 -720	96 -720	-3161 -720	-3181 -720	-3166 -720	-3053 -720	-2959 -720	-1855 -720	2728 -720 <sup>732.</sup>
-9096 -466	665 466	-944 -466	-885 -466	-9057 -466	-9076 -466	-2749 -466	-6626 -466	4081	4 4 66 4	-2342 -466	-1650 -466	-3882 -466	-2766 -466	-2593 2 -466 - Blatt 10/32
-8307 210	4183	-7025 210	4212 210	-8487 210	-8678 210	210	-6284 210	-1843 210	210 210	-691 210	-923 210	216 210	-510 210	426 210 abelle 4,
-9750 -626	574	452 -626	1709 -626	-9658 -626	-9783 -626	-831 -626 *	-6377 -626	4123 -626	-4164 -626	4133 -626	-907 -626	-3930 -626	-2816 -626	-2615 -626 Ta
-7495 106	-1378 -3297 106	-1378 -7171 106	-1378 -3328 106	-1376 -7642 106	5476 106 -1378	-3121 106	-1378 -5822 106	-2259 106 -1378	-2252 - 106 -1378	3017 106 1378	-2203 106	204 204 106 106	-892 106	-748 106 -39
-7098 399	35. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10. 10	-701 -7157 399	-701 -4455 399	399	399 399 -701	399 399	1671 389 289	399 -701	388 201	398 65	399	380	399	-5116 -1952 399 -5240
-8700 -381	-1115 2004 -381	-1115 -4907 -381	-1115 2039 -381	-8516 -381 -381	-1-15 -8089 -381 -115	-2867	-1115 -6579 -381	4380 -381 -115	450 -381	-381 -381	-1210	4183 -381	-364 -381 -381	-1115 -2871 -381 -1115
-7396 43	-894 -4588 43	-894 -7072 43	-894 -4616 -43	8023 43 623 63	8503 43 894	-3820 43	6508 438 438 438 438 438 438 438 438 438 43	-245 -245 -845 -845	171 43 43	-115 43 43	1484	45. 45.	25 25 25 35 35 35 35 35 35 35 35 35 35 35 35 35	-894 1130 43 -894
4232	-11527 -5224 233	-11527 -7392 233	-11527 -5251 233	-1152/ -7637 -233	.72cr- -8125 -233 -41577	233	6380 -6380 -233	1810 233 1527	1113 233	5 <u>5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 </u>	233	233 233 233 233	23 8 5	-1848 1260 233 -9077
-7310	-300 -10485 -2705 -500	-10485 -4206 -500	-10485 -2728 -500	-7138 -7138 -5005-	-7286 -7286 -500 -10485	2001	-10485 -4014 -500 -500	1078 -500 -500	4092 -500	50.5	-3956	-10404 -3868 -500 -500	-10239 -2754 -500	-8501 -500 -8034
-8466	1.051-	-1- -202 -149	-1 -1570 -149	-1 -8077 -149	-1 -8777 -149	-149	-82 -149 -149	- 583 <del>-</del> 7	1323	-1452 -149	1341	+ 459 + 459 + 459	-174 50 -149	-475 1353 -149 -8
127	128	129	130	. 13.	132	£ .	· <del>1</del> ·	. 135	136	137	138	139	, 4 ,	· <del>1</del> · ·

186 8	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	
-1686 -231	-2253 -249	21 -249	-3291 · -249	885 -249	1373 -249	-3593 -249	-6 -249	763 -249	1094 -249	-3192 -249	151 -249	1996 -249	-1766 -249	3252 -249	
-2296 -297	2606 ·	-294 -294	-3973	-294	215	-294 -294	4099	-294	-4251 -294	-3875. -294	-3592 -294	-1721	-2296	1226	•
1220 -372	-259 -369	225	-688	1238 -369	454 -369	-1243 -369	486 -369	-3676 -369	-3688 -369	-3314 -369	452 -369	1038 -369	д- 995-	-3334	
-803	-141 117	-72 117	-2257 117	622	117	-898 117	-2387	-297 117	48 117	231	247 117	-1269 117	71 117	63	
-805 359	417	459 359	-219 359	1858 359	-2853 359	1141 359	1401 359	699 359	-320 359	975 359	336 359	-1846 359	-1181 359	135 359	
-670 97	-3220 96	6 6 8	1139 96	-3529 96	96 96	-727 96	-2170 96	-1007 96	1407 96	-174 96	<del>2</del> 8	505 96	819 96	-2026 96	
1549 46	-2979 - 45	2002 45	-1492 45	-3244 45	-2359 45	265 45	-1622 45	-614 45	-1771	852 45	979 45	-1890 45	-605 45	104	
391	· ·	-770 394			-3976 394	-297 394	.711 394	-639 394	3665	1163 394	1995 394	-2850 394	-2327 394	-3366 394	
-564 -	•		-1928 275	-3562 275	1631	-242 275	1137	924	5. 27.5	2037	-1876	-2208 275	861 275	1348	
-1164	1354	2798				628	3004	-3148	3156	-7.27 -2781 -2781	-110	476	-1123	-2816 -720	1/35
2011		•			140	-1722	788	-1180 -1180	-1755	-460 -1337	989	-1132 466	1901-	-1250 -466	, Blatt 1
1106	3285	·				1639	957	1549	5, 44	270	2, 28	2150	674	877 210 210	Tabelle 4, Blatt 11/32
640			55° 55°	8. 8 8. 8	672	4164	-626 -3982	-626 -1749	-626 -4136	-626 -3764	-526	-626 - 727	- 179	-626 -10 -626	•
-555	103 1200 2613	106 -577 -1875	-385 -385 -1951	106- 279	-3484 -299	106 -1378 -236	1378 49	106 -2384 -2233	106 -776 -2230	106 -776 -1851	106 -108 -1859	106 -92 -1624	5 4 8	1057 -1934 -1934 -106	
309	399 -825 - 3761 -	399 1601 3216	399 -2093 -251	339 222 23	389 -135 89	399 -701 652	85 <del>-</del> 5 8	399 -307 1035	399 -1265 1273	399 -1265 -384	399 -3799 382	399 -4011 -2793	399 -5073 -2242	399 -550 -3274 399	C77-
2257	-379 -495 3508 -	-381 -1115 -448	-381 -1115 -	-381 -1115 -431	-381 -1115 814	-381 -1115 -4413	-381 -1115 -706	-381 -1115 -429	-381 -1115 -1161	-381 -1115 -4013	-381 -1115 588	-381 -1115 1786	-381 -1115 775	.4025 .4025 .381	-1115 -
- 277	43 1784 3609	. 43 - 613	5 43 1980 1980	43 -894 3784	8 43 116 117	43 486 486	43 43 417	43 -894 -1902	-894 -894	£ \$ 4	-894 -79	43 -894 1286	43 484 -787	2 -894 2 -894 5 40 8 43	-894
1060	232 3094 235	233 0840 906	233 1084 737	233 11175 527	233 11340 -871	233 11527 -1124	233	233 11328 257	11501	£82 565 565	233 -3849	233 -762 -3028	233 -3521 2293	233 2 -9542 2 -466 2 233	-11141
	-502 -370 -2153	-500 -500 9798 -1	-500 -0042 -1	-500 -500 -500 500 500	-500 -10298 -	500 10485	10485 10485	-500 -500 -500 -500 -500 -500 -500 -500	10459	-500 -10459	-500 -10015	-500 -9912 -972	-500 -8629 -674	500 5 -8499 3 -3722 9 -500	-10099
286.2	3199	75 45	-149 -271	149 - 149 -	- 149 - 24 - 43	-149	-149 -201	8 <del>6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6</del>	-149 -149 -7	673 446 69	-149 -105	-149 -1289	-135	-149 -6 -6 -2293 -149	7
64.4		₹ ' ' <u>\$</u>	£;		·	₹ , , <del></del>	94.	149	0¢L , !	<u> </u>	761	5	<u> </u>	155 156	•

509	210	211	212	213	214	216	221	. 222	223	224	525	528		230
-3562 -249	-3591 -249	3644 -249	3076	799	-1882 -250	-2477 -246	-2876 -249	-2978 -249	-2933 -249	396	583 -249	1930 -250	878 -250	
-4245 -294	-4273 -294	3651 -294	392	-3157 -294	-2552 -295	5731 -296	-3540 -294	-3663	-3580 -294	2038	1726 -294	-2759 -295	-2670 -295	-2985 -294
-3684 -369	-1229 -369	-2136 -369	-1763 -369	-22	-1974 -370	-2563 -371	-2946 -369	-3102 -369	-2961 -369	259 -369	-369 -369	-44 -369	-2086 -370	-2411
-343	-92 117	-1205	374 117	-877 117	-870 117	-3190 124	-1878 117	209	-197 117	-1519 117	-1228 117	-1202 117	-984 116	735
374 359	-152 359	-3446 359	-716 359	467 359	-819 358	-3721 358	-579 359	-1881 359	-749 359	326 359	-18 359	1631 359	578 358	-146 359
1582 96	-2341 96	-3866 -986	-131 96	-3570 96	1041 95	811 102	1608 96	-1730 96	- 96	1463 96	266 96	-1111 96	-792 95	-1078 96
-11	1057 45	-3647 45	1070 45	-716 45	-114 48	-3265 44	-1136 45	890 45	-1239 45	-1054 45	.848 45	-531 45	-223 44	1242 45
457 394	-3687 394	4423 394	-940 394	-839 394	505 393	4583 392	-720 394	2752 394	1374 394	-2771 394	-2512 394	-2322 394	393	1812 394
-972 275	894 275	-3930 275	107 275	610 275	-551 275	-3944	-1571 275	-230 275	-1673 275	-1474 275	-1261 275	1424 275	2156 276	385 275
.3151 -720	-3178 -720	-1920 -720	48 -720	-1911 -720	-1454 -721	-2102 -722	-2437 -720	-2571 -720	-2471 -720	-1548 -720	-1144 -720	-1644 -721	-1575 -721	-1887 -720 /32
4078	4104 466	-2566 -466	-3982 -466	8 8	-2368	-91 -467	-1045 -466	-3496 466	-3361 -466	-2323 -466	441	-2497 -466	-2483 -467	253 -2806 -188 210 -466 -7. Tabelle 4, Blatt 12/32
492 210	546 210	210	. 485 210	-3527 210	1092 210	-2773 209	932 210	141 210	-200 210	1980 210	295	- <del>61</del>	280	253 210 abelle 4
-4134 -626	-244 -626	496 -626	4021 -626	2092 -626	-2402 -627	-722 -628	-3361 -626	-3551 -626	736 -626	-367 -626	17 -626	-2438 -626	-2514 -627	708 -626
-2221 106	-2128 -2253 106	-1378 -623 106	454 106	-337 1129 106	-337 -568 -105	-934 -3019 110	25 25 25 5 5 5	485 1157 106	-128 -1680 106	-75 -1385 106	-51 2322 106	4 8 5	4 <del>2</del> 2 5	-262 1428 106 -587
1922 399	-375 -1508 399	-707- -253 399	-1890 -3507 399	-2264 -1395 399	352 352 399	-1006 -573 397	-2653 387 399	-1807 -2959 399	-3554 2536 399	4297 -690 399	88 88 88 89 89 89	-5043 400 400	-5139 -1980 399	-2593 -2328 399 -1580
4383 -381	-1115 -716 -381	-1115 1305 -381	-1115 939 -381	-1115 960 -381	-1115 867 -381	-5471 -2478 -375	-554 2742 -381	-1115 -76 -381	-1115 -3638 -381	-1115 -82 -381	-1115 -2072 -381	-1115 -2734 -376	4100 476 -377	-5634 -3104 -381 -1115
-350 43	25. 48. 48. 48. 48. 48.	-894 4338 43	-894 -671 43	-894 -3797 43	489- 4402 4	4382 42	-1648 -1266 43	864 403 84 84	-894 -293 43	25. 42. 43. 43.	28- 440- 54- 54-	-894 -585 43	-87 677 47	-29 579 43 -894
527	-11490 2756 233	-1074 -1074 -233	-5247 -1061	-11419 693 233	.361 -791 232	-2219 -5235 234	-3688 -426 233	-2475 1563 233	-10730 -1920 233	-1549 277 233	-1978 496 233	-2500 528 233	-3213 1476 234	-9308 -1208 233 -3259
4062	-4089 -4089	-10485 579 579	1605	-10377 581	-2360 -2360 -500	-539 -3172 -501	-2618 -3339 -500	,486 986 986 986 986 986 986 986 986 986 9	-9688 -3357 -500	-9729 -2399 -500	-9127 -1986 -500	-8707 -2465 -500	-2243 -2476 -501	-430 -2795 -500 -8878
7.7	360	-71 -2856 -74	4 4 4	-2 -1573 -1573	-2181 -2181 -144	-3368 -3247 -150	-397 -660 -449	-288 -2004	5. 685- 685-	-606 -1580 -1580	-426 -1289 -149	-285 -1243 -149	-554 -1042 -147	-1964 -1350 -149 -163
157	158	159	9	191	162	. 163	164	165	166	167	168	. 169	. 12	

231	233	234	236	237	238	539	240	241	242	243	244	245
-2785 -249 -3323	-249 2118 -249	1883 -249 -3592	-249 -3592 -249	-4 -249	-203	1322 -249	232 -249	-108 -249	1901 -249	-21 <i>77</i> -249	-197 -249	-2111
-3467 -294 -4005	-294 -294 -294	-294 -294 -297	-294 -294	481	4209 -294	4896 -294	- 74 - 24 - 24 - 24 - 24	-294 -294	2626 -294	-2606 -294	-914 -294	-2813 -295
-2903 -369 -604	-369 -1248 -369	-1669 -369 -721	-369 -3713 -369	-2547 -369	-3645 -369	-2623 -369	-805 -369	-3331	-1490 -369	-2378 -369	1288 -369	-2249
-1754 117 776	117	685	117 -2558 117	1668	-261	-2582 117	-2465 117	-951 117	-1666 117	-1706 117	-1131 117	-1083 118
-1696 359 -54	359 -1474 359	602 359 1339	359 -313 359	856 359	-2440 359	-687 359	359	1714 359	-1971 359	-1793 359	-1740 359	360 360
84 . 96 2070	96 510 96	-221 96 -2340	96 161- 96	-2982 96	-349 96	-2825 96	776 96	475 96	-2041 96	-125 96	-2179 96	88 69 60 70 70 70 70 70 70 70 70 70 70 70 70 70
1554 45 -364	45 45 45	396 45 717	-319 45	-985 45	-696 45	-2357 45	-1708 45	-233 45	-1614 45	-700 -45	-1948 45	-289 44
-2882 394 -1235	394 1475 394	-3669 394 1610	394 394 394	-1550 394	394	-3922 394	-3597 394	954 394	-3040 394	-2710 394	-2704 394	393
209 275 2270	275 68 275	-720 275 1312	275 -74 275	1208 275	2707 275	410 275	1359 275	-183 275	1516 275	-1481 275	-2183 275	1169
-2372 -720	-720 -3029 -720	-440 -720	-720 -3180 -720	-2265 -720	-3114 -720	784 -720	-3062 -720	-2800 -720	-1203 -720	-1910 -720	-222 -720	-1732 -711 /32
-1030 -466	466 466 466 466	-909 -466	-466 -466 -2357	-154 466	4039 466	-745 -466	-1018 -466	-3725 -466	-113 -466	-2624 -466	-789 -466	768 -2643 -1 210 -467 - Tabelle 4, Blatt 13/32
-123 210	210 210 210 210 210	-267 210	23, 210, 210, 210, 210, 210, 210, 210, 210	-218 210	-105 210	• 677 210	• 665 210	-220 210	374 210	2194 210	-2327 210	768 210 abelle 4,
-342 -626.	-626 -3970 -3970	72 -626 -453	456 -1208 -1208	-2692 -626	-265 -626	- -1152 -626	922 -626	-3778 -626	-1618 -626	-2650 -626	-451 -626	
-1448 106 -1333	106 1227 204 106	-1673 -166 -2104	106 106 -1378 -2252 106	-1378 -2689 106	£ 23 55	£ 8 5 5	-330 1233 106	-330 1404 106	-113 3226 106	3935 106	-37 2355 106	-131 1333 105 -71
399 -729	399 -804 58	.3576 .382 .382	.399 -701 -955	25. 28. 39. 89.	-1888 88 89 89 89	-1898 -1900 399	-2289 1000 389	2289 240 399	-3733 -374 399	-5012 -2585 399	-5292 -2639 399	-3526 -1997 402 -4371
-3601 -381 -1115	-786 -381 -1115 108	-1115 959 -381 -1115	-381 -381 -4411 -4411	-1115 1809 -381	-1115 -4342 -381	-1115 1324 -381	-1115 -4278	-1115 1206 -381	-1115 867 -381	-1115 -2813 -381	-1115 3010 -381	-1115 -2942 -379 -5656
43		234 231 894 894 894	28 43 49 49 45 49	-894 -2796 43	-894 -1860	-1101 -1101 -134	488	-894 -1543 43	-894 -1929 43	-894 -1434 43	-894 -2703 43	304 304 43 59 59
-343 233 -10552	233 233 -11213 212	233 233 -11492	233 233 -11527 1936	4386 -3360 3360 3360	-11457 1509	-5163 -1026	-11416 89	-2283 307 233	-780 -2481 233	-971 -2132 233	-8800 -3256 233	-8800 1948 232 -3129
-3282 -500 -9510	-3822 -500 -10171	-500 -4012 -500 -10450	-4092 -500 -10485 -451	-300 -10485 1548 -500	-10415 1368	-10415 -3153	-300 -10374 290	-10374 -3710 -500	-10043 -2015 -500	-8785 2872	-7758 2374 -500	-7758 -2630 -501 -343
	•	44. 44. 44. 45. 49.										
172	173	175	176	178	179	180	181	182	. 48	, <u>\$</u>	185	<del>1</del> 86

247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	569	270	271	272	273	
-1021	1888 -249	-3234	-2875 -249	426 -249	249	-3592 -249	2849	-674 -249	2144	-2255	901 -249	-768 -249	-456 -249	-294 -249 -	•
2758 -294	-294	2959	221	294	4250 -294	4274 -294	4853	4273	2619	3157	422- -294	2947	1920	-294	
. 695 -369	296 -369	-1479 -369	-2411	-1263 -369	-1321	-1544 -369	-285 -369	-3710 -369	-1164 -373	251 -369	-3644 -369	-1236 -369	-1719	1460 -369	
316	-721 117	34 117	-339	-2475 117	1918	-1387 117	-2936 117	1105	22 115	-1505 117	501 117	342 117	537	1032 117	
-1607 359	-255 359	-1247 . 359	407 359	-2430 359	359	-571 359	-3351 359	1339 359	-179 355	-1533 359	28 359	-1119 359	-1397 359	276 359	
-2039 96	-2529 96	377	775 96	-2278 96	-2315 96	877 96	-337 96	-500 -86	<b>2</b> 2 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	1509 96	392 96	-2376 96	-979 96	1309 96	
-1816 45	-2080 45	-360 45	-2242 45	1150 45	44 45	1413 45	-3116 45	419 45	-1902 43	-925 45	-1774 45	-289 45	787 45	494 45	
426 394	-3569 394	-3360 394	-3773 394	-896 394	988 394	-126 394	-116 394	-3687 394	-3723 392	-2656 394	-3662 394	-352 394	-3692 394	-915 394	
-2097 275	-270 275	1385 275	-2639 275	462 275	998 275	1953 275	-3482 275	1221 275	1352 273	-1285 275	1018 275	551 275	1822 275	-1211 275	
-115	-1824 -720	-2803 -720	-106 -720	3033	-3156 -720	1183 -720	-2334 -720	-3178 -720	-2868 -725	-1733 -720	-3123 -720	433 -726	-458 -720	-2524 -720	1/32
-763 -466	366	-1488 -466	-2837 -466	-1731 -466	4083 466	-2033 -466	-2999 -466	-1611 -466	-2136 -470	-2524 -466	-1214 -466	4007	-1157 -466	-2096	, Blatt 14/32
-2140	-184 -184 -105	-593 210	-2347 210	-938 210	-571	472	-1015 210	-686 210	-204 215	-937 210	-151 210	-1876 210	241 240	-2404 210	Fabelle 4
2394	405 405 626	-3744 -626	22, 23,	1393	4138	4160	-2699 -626	-633 -626	-3617 -613	-2387 -626	-636 -626	-4015 -626	-1256 -626	-3036 -626	
-1413	-1269 -1783	545 514 514	-2436 -2436 -2436	-1472 -119	-1640 -2227	-2003 -2252	-1378 -3014 106	-1378 946 106	-1378 -2309 105	-503 -1283 106	4268 888 106	-2128 -2279 106	-1378 297	-1378 -2591 106	-13/8
8 8	.3494 -3494	.1667 629	2048 1605	2096	.558 -679 -679	-1328 -1328	-701 -1186 -399	353	-3634 404 404	1765	-77- -3569 399	-375 -681 -390	-701 -3599 -3599	-701 1545 399	- <b>70</b>
-875	-381 -1115 17	-361 -1115 2378	-381 -2988 -2988	-1115 -4226	-1115 -4387	\$ <del>1</del> <del>1</del> <del>2</del>	-1115 1171 1171	-115 -654	-1115 -644 -371	-2697 -2697	-115 -843 -843	115	-1115 678 678	-1115 -3437 -381	-1115
-2485	64 8 8 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6	3 8 4 5 4 4 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-894 -2484	5 8 8 8 5 5 4 8 5	29 5 205 4	-894 -1919	-894 -3498 -498	4 8 5 6	-894 -2049 -894	-2375 -1033	5 2 4 4 5 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	-894 1991	4 8 4 5 c	-894 -2524 -43	-89 <del>4</del>
-3098	-9204 760	10942 -894	233 2503 2503	-1214 188 188	-1423 -740 -740	1588 1688	233 -11527 -128	-11527 -46	2499 2499 2499	265 1918 1918	202	-11490 619	-11527 -1527 669	233 -11527 -3081 233	-2142
														-500 -10485 -3362 -500	
£	-149 -8 -1031	-149 -2286	-149 -2 -1217	-149 -2 -2536	-149 -2 -2	-149 -2 947	-149 -1 -2997	-149 -1 -2619	-149 -61 -2602	-149 -2772 -1540	<u>\$</u> 4 8 5	46.2	- <del>1</del>	-149 -1 -255 -149	-372
187	49	189	190	5	. 192	193	194	195	196	- 197	198		700	201	•

-249 -302 -249 -249 -249 -249 -3493 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -294 -294 -294 -294 -294 4240 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -369 -369 -369 -369 .1245 -369 -369 4<del>6</del>8 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 117 117 -512 117 -586 117 117 117 -699 117 117 117 117 117 359 359 85 359 359 359 2285 359 359 359 359 359 359 359 359 .1266 96 96 4129 96 -2823 96 96 සු සි 96 96 -285 96 96 3320 96 -1052 45 -2344 45 16 45 1705 45 45 -852 45 45 394 394 394 -758 394 3596 394 394 -659 394 394 394 394 394 394 275 275 -564 275 275 275 -659 275 275 275 275 275 275 275 -720 -720 -3075 -720 -720 -720 720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -720 -466 -1755 -466 6721 -466 466 2182 -466 3080 466 466 1539 466 -154 466 466 466 466 1430
233
2438
351
253
10257
10257
10257
10338
1198
1198
1198
11487
233
11487
510
233
11487
510
233
11487
510
233
11487
510
233
11527
3855
233
11527 -500 -500 -500 -500 -500 -9821 -500 -9392 -9392 -9 - 203 - 204 - 205 - 205 - 207 - 207 - 210 - 211 - 211 - 212 - 214 - 214 - 215 - 216 - 217 - 218

																																_	_					_					
	. <b>58</b> 8		290	•		291	•		767		, 600	200		294			304		•	305			308	•	• {	307	•	o C	9		309		<i>,</i>	310			311		215	2			
	-3587		2080	-249		-264	-243	(	6000	242	3630	-2023	}. i	1832	-246		-3877	-249	÷-	1201	-249		-3593	-249		1757	-249	6607	555	647-	2186	-249	<del>.</del> -	-357	-249		2148	00. 	00	507-			
_	797	j 	3158	-294		4275	-294		4239	ý. 4		8 c		4275	-281		4243	-294		-3297	294		4276	294		4275	-29 <u>4</u>		4 6	,	-3509	1-294		4275	-294		4062	-532	5	2-6 5-6	-		
	-3687	000	-2176	-369	•	-3714	-369	•	-3680	-369	,120	اد/ئ- 160	3	257	-366		3184	-369		1420	-369		-3715	-369		-587	-369	į	517	65-	149	389	}	-3713	99 -		-2858	-370	1	15/2	600-		
•	-2568	Ξ	2462	117	•	-536	117		-2529	117	0	1292	=	188	116		-445	117		-2751	117		-1255	117		-519	117		-1544	11	163	117		.88	117		-325	<del>1</del> 6		ည် ဦ	=		
•	651	ec.	-1878	359		490	328		839	328		96	n O	5.	360	}	-4538	329		-714	329		210	328		-2500	329		-3507	328	670	3,50	3	-1480	329		929	360	;	-319 616	ec.		
	-517	S	-3946	96		545	98		-653	98		-2379	9	1255	8	3	-5031	96	3	. 2202	96	;	695	96	)	408	96		-3976	9	700	3	9	309	96	3	-1991	92		-3981 5	S		
	-1810	45	885	45		723.	45		-1757	45		-1826	ð.	114	<u> </u>	?	4849	45	?	2287	45	?	1796	45	!	629	45		-626	49	,	1024	<del>1</del>	-1792	45	2	-1457	4		-3803	<del>4</del>		
	-3699	394	555	39.5	}	-3686	394		-3651	394		2711	394	4640	000	200	4304	300	3	A77A	394	3	-	304		-3686	394		4473	394	0	0701-	400	-3686	304	5	-3276	393		-4475	394		
	3227	275	4017	275	ì	619	275		3577	275		971	275	900	200	700	FORA	275	27	2487	275	3	1775	27.0	3	354	275		-273	275		וסטר-	2/2	1611	275	24	-1883	275		4070	275		
	-440	-720	103	130	2	-3181	-720		2	-720		-3220	-720	3	2 6	-(23	9090	1200	77	760	5 5	2	2182	3 6	-140	113	-720		2195	-720		245	-720	2180	2 5	77.	-2425	-721	•	2050	-720	ç	76/0
	-4082	466	ř	17-	}	116	466	3	4072	-466		-4146	466	į	-24/2	¥ B	Č	e c	9	3000	C7/7-	9	4400	100	9	1668	466	}	939	466		989	486	ď	000	Ş	-3265	467		1109	466		rabelle 4, Blatt 10/32
	495	210	* 100	200	2 *	1.58	210	2 *	.279	210	•	-639	210	• ;	92	503		5/10-	UL2 •	, 5	345	2.	100	2701	17	996	25	•	-1151	210	•	1468	210		071	012	1511	212	*	4179	210	• `	Tabelle 4
	•	-626		9577-			929		•	-626		-4201			4163				979-		614				979		404					-228			7071-			-627		•	-626	•	
			-1378																																							•	
	-1778	399	-70	4433	366	5 8	0 0	3 6	207-	500	235	8	333	-701	-513	397	-707	-5405	300	-623	4213	66 66 7	-384	-159	333	5 5	-1336	2.5	4423	399	-70	4035	333	-70	-1//6	339	10/-	* 60° C	2,5	-146	333	-701	
	-4380	-381	-1115	-19	-38	-1115	5 5	5	4270	15/4 1384	1114	4450	-381	-1115	4412	-383	-262	1402	-384	-1115	-2846	-381	-1115	444	-38	-1115	4412	2.4	-11.13	384	-1115	496	-381	-1115	44	-381	-1115	4/3	, «	764	-38	-1115	
			-89																																								
	24.50	233	-11527	-5076	233	-11527	844	233	4122	492	3	30	233	-11527	726	234	-3805	9909-	233	-11420	4164	233	-11492	1469	233	-11527	-1137	233	77211-	- - - - - - - - - - - - - - - - - - -	-11527	-3504	233	-11527	2196	233	-1557	220	457	-10929	233	-11527	
	107	5 5	-10485	-2760	9	-10485	4092	-200	-10485	432	200	10400-	500	-10485	4092	-502	-3650	1317	-500	-10378	-2865	-200	-10450	4093	-200	-10485	4091	-200	-10485	2027-	-300	3111	-200	-10485	4091	-20	-10485	-3300	-505	2707	2000	-10485	
	1	-1455	<u> </u>	-2908	-149	٦	-858	-149	ဆို	-2590	-149	2-2	1001-	7	260	-147	-236	4	-149	ņ	65	-149	?	-651	-149	7	338	-149	<b>T</b>	-1252	941-	808	-149	7	ထု	-149	-601	130	-147	9L1-	-149 -149	•	
	,	) 1.7	٠:	218	•		219			220	•	, ह	177		222	١.	•	223			224			225			226		•	. 227		300	3 .		229	,		230		, 8	ই .		

			· · - <del></del>											
316	317	327	328	329	330	331	332	333	336	337	338	339	340	341
-301 -249	-3572 -240	2811 -249	-2874 -249	-256 -249	-3293 -249	1304 -249	-2767 -249	-1082 -250	-2700 -249	992 -249	-249	-2979 -249	-844 -249	-6891 -249
-329 <u>8</u> -294	3083 -296	-3157 -294	5347 -294	-3212  -294	294	1014	1650 -294	-1510 -295	3559	2073	5001	-3322	-6560	-294
871 -369	-3694 -371	-369 -369	621 -369	-383 -369	-3414 -369	-3466 -369	-369 -369	1348 -370	-2978 -369	927 -369	-4358 -369	2418 -369	-5826 -369	-369 -369
-1530 117	-33	-3037	-1348	-797 117	-2260	491	-2200	-658	1284	-1641 117	-3044	-2943 117	4466	4737
-82 359	-1371 358	-3721 359	-3489 359	15 359	-730 359	-2252 359	200 359	-950 359	-1436 359	-2332 359	-874 359	-3668 359	-171 359	.4523 359
-1673 96	805 97	-113 96	73 96	-1731 96	1351 96	655 96	-2465 96	-1069 98	-1746 96	-2804 96	-3239 96	4141 96	4889 96	-6872 96
-3227 45	44 44	-3991 45	-1018 45	-1240 45	-1494 45	607 45	-1959 45	-651 48	-724 45	-2626 45	1178 45	-3963 45	-3629 45	-6771 45
-4314 394	-3665 395	4674 394	4464 394	4409 394	-3388 394	495 394	-315 394	-2034 393	-2376 394	-3297 394	-3695 394	4619 394	-5036 394	-5815 394
1063 275	77 274	-4253 275	-3962 275	446 275	1728 275	-1981 275	-563 275	-983 276	1229 275	-2893 275	545 275	4224 275	-3250 275	-5861 275
1459 -720	-3161 -722	408 -720	-1971 -720	858 -720	381 -720	458 -720	-2078 -720	2421 -721	-2571 -720	1589 -720	-4030 -720	262 -720	-5641 -720	-6597 · -720 7/32
359 466	408 465	1748 -466	429	1655 466	-740 -466	-2157 -466	-2812 -466	-926 -465	-3374 -466	1436 -466	4814	-790 -466	-6372 -466	-7247 -7441 -6 210 -466 - Tabelle 4, Blatt 17/32
799	1820 209	-4390 210	119 210	-3847 210	532 210	1250 210	210	-770 -770 211	* -1067 210	-3003 210	-2536 210	-4335 -210	-304 210	-7247 210 Fabelle 4
1080 -626	4144	-2384 -626	134	4 1185 -626	-3862 -626	.3915 -676	-2568 -626	-536 -627	-3463 -626	1205	4899	2402 -626	-6451 -626	-7307 -626
-3067 106	-1378 1146	1098	-1378 -3255 106	-1378 -3201	-1378 -1953 -1953	-75 1082 1082	-2197 -2197	57- 27- 201	-115 -165 -166	-2119	-106 -2504 106	4060 76	-675 -3961 106	-2564 -6508 106 -1378
89	-707 -134 -134	446 4633	-707- 4413	233-233	10, 4 %	-1267 569 569	3002 3002 3002	4336 1526.	-3702 -1975 -1975	-1665 -3248	3824 2995 399	-89 -4578	-1420 -553 399	267 3753 399 -701
-2832	-1115 -4393	-191 2467	-1115 -2731	1115	4115	4165	-1115 -41	-115	3628	-1115 1644	-381 -381	-1115 472 981	-381 -4115 -6561 -381	-1115 -6930 -381 -1115
-3685	\$ <del>8</del> 5 5	-3012 -4796	-894 4354 54	-884 4162 5	-894 1012	186. 58. 58. 58. 58. 58. 58. 58. 58. 58. 58	-894 -2116	45 -894 667	-749 -2247	-3408 -3408	-894 -1550 -43	4732 4732	-894 -2898 -2898	-894 -7394 -7394 -894
-1515	-5900 -1466	-11503 -5412	4991 4991	-11527 -8 -8	2213 2018 2018	4037	233 -1775 -28	-249 -249 -249 -249	2300 2298 2398	-2618 -664	233 -10137 1267	-10224 -5359	-5378 -5378 3750	-11458 -7040 -233 -11527
75-	-500 -10485 -4072	-5208 -5208 -557	-500 -10485 -2770	-500 -10485 -2762	-500 -10485 -3792	-500 -10135 -3844	-500 -10197 -2815	-989 -1030	-500 -650 -3381	-500 -7722 -1527	-9095 -9095 1561	-9182 529	-500 -10450 -5784	-500 -10415 -4791 -500 -10485
727	- 55 55 - 55 55 - 55 5	-398 -398	4 - 49	-149 -1 518	149 -352 -2321	-149 -92 -250	-149 -500 -2222	-149 -2227 -690	-149 -2648 -1684	-149 -265 -498	- 4 <del>1</del> 4 1 4 <del>1</del> 4 1 4 1 4 1 4 1 4 1 4 1 4 1 4 1 4 1 4	45	<u>충</u> % 중 5	-149 -882 -149 -149
														246

342	343	344	345	346	347	348	349	. 350	351	352	354	382	383	384	
92 -249	-6845 · -249	-4973 -249	-7548 -249	-2833	-3164 -249	-3605 -249	141	1837	641 -249	-940 -251	-2319	1327	897 -249	988	<del></del> -
3771	-294	4988 -294	-294	3176	-294 -294	-294 -294	-3185 -294	-3254	1322	4265	-2995 -288 -288	-2977	-2462 -294	796	
5422 3 -369 -	.7468 -6 -369	445 -4	-8427 -: -369	1651 -369	2448 - -369	-3726 -369	-727 -369	1493	-3714 -369	-3696 -366	-445 -372	-2372 -369	-1536 -369	-3683	•
6415 -	6659 -	4979	117	1109	3050	-866 117	-2826 117	117	-2558 117	-1329 116	-1299 113	-1357 117	-99 117	-301	
.6447 -6 359	-6812° -6 359	6199 359	359	1105 359	. 638 359	.251 359	-1731 359	-3612 359	1631 359	-1133 360	-1244 355	-1317 359	-1807 359	756 359	
9- 6099- 96	4226 -4 96	6306 - 96	•			351 96			-740 96	-2346 96	242 89		-1874 96	-564 96	•
. 748 . 65		5839 -	-6709 ·	-		-1802 45	-3677 45	-3900 45	-609 54	42 44	1354 28	-622	-1416 45	382 45	
.7055				·	•	362	4455 394	986	1215 394	1013	1512	111	-2915 394	1458 394	•
-5988 -7		•	•				-3962 -375	4171	-601 -601 -755	262	-973 283	2745	1387	494 275	
4495 -5	• .	•	-		•		-720 1252	2830	-,278 -3181	, & t	-1898 -1898	-1878	-1252	3150 -720	. 722
255 4						•		8 8 4		•	-2816 -2816	-2768	-1967	-2004 -466	ш
-7173	•	-	•	•	210 4438	•		210	24° + 29°	210	. 285 -582	194 . 666	210	-1802 210	abelle 4,
	-626. 7674 -4	•	•	•	-626		-626	-626 2480	-626 -4163	-626 -1191	-623	-637	-626 778	-626 -4132 -626	
3668	106 - 378 1618 -7				106 1378 3615	•	-	106 1378 3399	106 -1378 -2252	106 -1378 1678	108 -996	6 7 5 7 5 7 5	106 -155 -1598	4123 175 106	-2097
	399 -701 -1 6618 -5	399	399	389 107-	389 -701 101	101- 101- 101- 101- 101- 101- 101- 101	399 530 530	399 -701 -1479	399 -701 -72	399 -701 -3597	398 -701 -2333	397 4972 -2386	399 -3296 2157	399 -85 1288	384
	381 115 -	381	381	-381 1115	-381 1115	-381 1115	. 381 1115 73	-381 -1115 -583	-381 -115 263	-115 -115 -84	-379 -6554 -3114	-375 -89 -89	-381 -1115 -2115	-381 -1115 4 4382	-1115
2	2843 2. 1- 2		894 43 43 - 1-	8 4 8 8 4 4 8 4 4	884 894 1.	8 4 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8 8	5 4 8 5 5 4 8 5 5 7 7 8	2 4 8 8 2 4 8 8	8 4 8 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	8 4 8 5 5 4 8 5	45 43	4062	43 43 1660	43 474 474	-894 -894
	33 43	523	527 527 527	192 233 527	223 233 527	233 237 527	233 233 1527	233 1527	233 233 1527 1527	233 1527 1527	236 -572 -572	264 264 -9917	233 233 -9917	233 8 -10121 -56	233 11492
	8 6 2 4	60 85	350 300 485 -11	123 133 1485 1485 1485 1485 1485 1485 1485 1485	715 -5 500 485 -11	938 500	56.50 56.50 5.50 5.50 5.50 5.50 5.50 5.5	.752 -500 -500 -1	2788 -500 3485 -1	-500 -500 -500 -1	205. 102. 103. 103. 103. 103. 103. 103. 103. 103	-213 -213	-500 -500 -8875	50 - 500 57 - 9078 -	-500 10450 -
٠	43 -57 49 -5 104 5	45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 45 4	<b>5</b>		183 -2 149 -1 -1 -10	379 - 2 149 - 1 1 - 10	633 -4 149 .	1- 	. 45 149 149		411 -150 :649	-411 -146 2874	1416 -149 -5	- 149 - 4 - 557	-149
	247 -65	248 -67 1	249 -50 -1	250 -72 1	251 2.	252 2	253 -2	254 -2	255 -2		257	528	259	260  261	

學生 海线等者

\$. \$. .;

385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	410
-274 -249	595 -249	-3593	-3593 -249	2415 -249	892 -249	-386 -249	-674 -249	-2826 -249	1098 -249	-3470 -249	2108 -249	-180 -249	-2487 -255	-2250 -249
2822 -294	3926 -294	4276	4275	3346	884	4276 -294	4276 -294	-3168 -294	4276 -294	4153	-3084	-2908 -294	-3166 -264	-2800
 -369 -369	403	-1876 -369	-258 - -369	-1132 -369	340	-1172 ·	-1728 -369	1488	-3714 -369	-3592 -369	628 -369	938 -369	-2597 -368	305 -369
-1281 117	1339	548	-672 117	-2832	1259 117	246 117	-2558	-775 117	407	-577 117	1049	794 117	-98 114	735 117
-768 359	-838 359	-362 359	753 359	-1378 359	-2960 359	850 359	-1517 359	-61 359	-1030 359	334 359	-2704 359	443 359	-265 356	1458 359
1061 96	-3927 96	1484 96	-2339 96	-3994 96	1152 96	-1132 96	397 96	-3981 96	167 96	69 98	-2817 96	-2598 96	870 93	-1496 96
-3162 45	1084 45	45 45	934 45	-1135 45	-2549 45	1806 45	-736 45	294 45	-319 45	821 45	-2399 45	-2174 45	-700 41	-980 45
-4293 394	4456 394	114 394	-1007 394	4487 394	-1033 394	.45 394	-3686 394	-20 394	361 394	178 394	-3779 394	-3575 394	-50 393	-2734 394
-1257 275	-802 275	-744 275	205	-889 275	-1113 275	-380 275	745 275	4069 275	2049	1664 275	-2778 275	829 275	-1136 277	•
-439 -720	-1922 -720	-3182 -720	-3181 -720	283 -720	2307 -720	-431 -720	-3182 -720	2698 -720	-3182 -720				٠,٠	785 -720 9/32
-1069 466	1050	4109 .	4 466 466	145 466	370 466	4 68 88 88 88 88 88 88 88 88 88 88 88 88	4109 466	982 466	4108 466	-3986 -466	-329 -466	-326	122	
-1519	4078	1899	417	464	55 210	313	1186	4176	1815	-267	232	1235		•
319		1				τ			•				••	
					-1378 813 106								•	-1339 -1339 -210
														4841 1340 399 -2882
														-380 -475 -2635 -2635 -381 -1115
														44 -1835 -163 -163 -894
1150	233 -11527 -1621	233 -11527 -707	233 -11527 580	233 -11527 -5233	233 -11527 -1037	233 -11527 1289	233 -11527 1238	233 -11527 -5213	233 -11527 262	-3466 -462	233 -2489 -1177	233 -2793 -1066	-1356 1132	231 3 -10165 1117 1117 233 3 -10165
-2879	-500 -10485 -2720	-500 -10485 -4093	-500 -10485 -4092	-500 -10485 -27 <sup>1</sup> 7	-500 -10485 -3183	-500 -10485 -4092	-500 -10485 -4093	-500 -10485 -2709	-500 -10485 -4092	-500 -10485 -3970	-500 -10342 -2676	-500 -10060 -2503	-500 -9836 -2978	-506 -2494 -500 1 -9123
1153	-149 122	-149 -1 -233	-149 -1 499	-149 -1 -2891	-149 -1 -503	-149 -159	-149 -1 1274	-149 -1 407	-149  85	-149 -149 124 124	-149 -284 625	-149 -226 73	-149 -717 -80	45. 48. 44. 44.
262	263	564	265	. 266	267	268	569	270	. 271	- - 272	- - 273	. 274	- - 275	276

411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	436	437	:
2375	896 -249	-3413 -249	-2830 -249	2512 -249	-208 -249	1386	-5886	-6874 -249	1326 -249	1422	-915 -249	-1999 -237	-3362 -249	-3302	
3528 -294	3886	2039	3175	990	134	-3246	-6934	-7315  -294	2926 -294	4640	4273	2374	-294 -294	-29 <del>8</del> 3	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
- 2980 -369	-3325 -369	-1765 -369	1285 -369	-1046 -369	1040	2596 -369	-6301 -369	-7450 -369	2210 -369	-795 -369	-1726 -369	-1213 -372	· -1514 -369	-1623 -369	
-1846	2169	-2380 117	215 117	-2816 117	1924	-218 117	-4868 117	-6009	-1307 117	-2816 117	-841 117	1564 115	580	446	
-1780	. 691 . 359	20 329	.364 .359	-3498 359	-1828 359	-3602 359	4432 359	-5553 359	-3509 359	-532 359	175 359	1858 358	-635 359	518 359	
1325	570 96	-2163 96	692 96	-3958 96	-3955 96	-4072 96	-5293 96	-6414 96	-3981 96	-750 96	-2341 96	-1945 93	-1027 96	-2060 96	
1163	426 45	-1615 45	-3728 45	-3771	-643 45	-3892 45	1419 45	4906 45	-3804 45	-3772 45	1361 45	-1561 44	1765 45	-1511 45	
597	394 394	1566 394	129 394	394	384 384	4560 394	-5218 394	-6088 394	-862 394	-1510 394	-3687 394	-2261 395	394	141	
-1452	275 -1839 275	430	4006	4042	-1446	4162	-3269 275	-1213	-1502 275	4043	-1104	-1621	712	1208	2
.2456	_	_	1507	2103	1757	207	-6095	-7325	1375	-1913	-3178	-1160	-166 -720	-2887	132
·	-466 :3719 .	3927	848	-1108	30 4	739	2189	-7778 466	-274	-298	728	-1880	-1941 -1941	-1911	_
•	210 1641 ·	326	4079	4136	4155	-1723	4391	-5596 -5596	1866	4138	2, 28,	1739	-1606	-1553	210 . * Tabelle 4,
3416	-626 -3775	-526 -3981	97° , 893°	-1048	-626 1605	230 * 250	0989-	9803e	1435	1399	-1843 -1843	1572	-52/	3859	
1510 .	106 1028 890	106 -1052 -2074	106 -3599 -3269	1378 185	106 -1378 -3270	-2008 -3390	106 -1378 -4075	-1378 -5139	-1378 -1378	-1378 -349	106 -1378 2467	-1378 -1642	-2302 -2025	-169 -169 -1969	<del>6</del> <del>6</del> <del>6</del>
1869	399 -972 -1118	38 92 92 93 93	399 -124 -1166	399 -704 -417	399 -701 -4398	399 4516	399 3180	399 -701 -5502	399 -701 -425	399 -701 -1110	399 -701 1367	8 5 <del>1</del> 8 5 4 8 5 4 8 5 4 8 5 4 8 5 4 8 5 4 8 5 4 8 5 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6 5 6	402 -327 1819	399 1065	399 -3476
3665	-381 -1115 4024	-381 -1115 -1111	-381 -1115 834	-381 -1115 3229	-381 -1115 109	-381 -1115 2352	-381 -1115 -6920	-381 -1115 -7732	-381 -1115 -167	-381 -1115 1589	381 1115 4408	-381 -1115 -2006	-383 -136 4178	-381 -115 -115	-381 -1115
	-894 -894 -430														
	. 233 -10389 369														
9	-3358 -500 -9346 -3703	-500 -9028 -1	-500 -71	-500 10485 -	-500 -500 1323	-500 10455 -	.500 10485 -	-500 -10485 -7026	.500 10485 -2704	-500 -10485 ·	500 508 508 508	-500 -10485 -1200	-503 -1741 -3859	-500 -10220 3794	-10/36 -10/36
	-1905 -149 -3														
	277	6/2 676	67 C	35			38	28 28.	3 8	280	3 , , 8	8	3 6	3 8	

\$ <del>2</del>38 -249 -249 -350 -249 -249 -249 -249 -249 -288 -249 249 -249 -249 -249 -642 -249 -2947 -2948 --294 -294 -294 -294 -369 -369 -369 .1324 -369 -369 369 -369 -369 -369 -369 -369 -369 369 17 117 117 117 8÷ † 117 -12 117 -266 117 117 359 359 359 359 -3 359 -19 359 359 359 359 359 359 359 359 359 -304 96 1170 96 104 .3195 96 2246 96 96 .765 96 .554 98 .561 98 45 45 45 462 462 45 45 45 45 45 -604 45 45 394 35 48 36 48 .766 394 39 39 394 394 39. 39. 394 38 394 394 394 275 275 275 275 -505 275 275 -727-275 275 275 275 275 275 275 -720 -720 -720 -720 -720 -720 3121 -720 -720 -720 -720 -720 466 -867 -466 466 668 466 466 466 466 466 4045 4045 -466 -905 -466 -466 1001 -466 -466 2750 293 294 295 296 296 297 297 300 300 304 305 305

•	1. i,			. <i>:</i> 			2	e digenti di servici
				33	/ 43		•	
454	455	456	459	461	463	464 465 466	467	469
-3593 -249	1529	-3531 -245 -245 -249	-2347 -249 -249 -249	-3663 -249 672	-249 -249	1960 1040 1040 1040 1040	-249 -1068 -249 493	-249 -249
4275	-294	-4212 -295 -3006 -294.	-2692 -3096 -3096	4350 7010 1010	294 45	4266 428 4266 4266 4266 4266 4266 4266 4	-294 -294 -3732	-294 -294
-3714	1357 -369	-601 -368 -154 -369	1211 -369 -2072 -369	-3789 -369 1077	-369 -976 -369	.2691 .369 .1647 .369	-369 -369 -2869	-369 -1544 -369
267	-356 117	1338 119 69	282 117 117 249 249	63 117 -2845	117 286 117	-6 117 -780 117 438	117 727 117 -2655	-291 117
939	460 359	294 360 916	-1354 359 -537	712 359 -3535	359 359	.279 359 .279 359 -215	359 -9 359 -1167	359 -102 359
-1015 96	-3979 96	-2280 95 -392	851 96 -3551	-609 -86 -96	98 283	-1349 96 548 96 384	96 -758 96 141	96 96 96
664 45	-3801 45	1352 48 -2126	-3272 -3272 -3268	456 45	45 45 45	-2491 45 45 45 269	45 45 45 232	1891 45
-1408	394 394	393	3982 394 ·	-3743 394	394 394 394	4036 394 -3981 394 -136	394 -3725 394	36 38 38
760	275 275	1235 277 -622	.641 275 142	1531 275 275	-2242 -2242 -275	441 275 275 275 275	275 -396 275	275 275 275
-3181	251- 251- 257-	157 -721 2904	1518 -720 2046	-720 -3258 -720	-1932 -720 -3155 -720	93 -720 -720 -720	-720 -3056 -720	-237 -237 -720
-2123	466 466	-2296 -467 -1373	466 466 532	4 183 8 183	466 468 466 468	1342 -466 -870 -466	7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7	-5/4 1197 210 466 - 400 -2211 - 210 466 - Tabelle 4, Blatt 22/32
-1832	210 4178 210	-611 209 -795	210 210 357	210 -1905 -1905	4204 210 397 210	2594 210 -11 -11 210	210	210 210 400 210 . 210
-1864	-626 -1012 -626	-1403 -627 -322	-626 -626 -40	4239 -626 -626	-537 -626 -626 -626	-2850 -626 -1378 -526	-626 -626 -626	-626 -1261 -626
414	106 -1378 -3295 106	-1378 -2192 105 -2567 638	106 -189 -2798 106 -1623 -3000	106 -2314 106 -1378	-3303 106 -1378 503 106	-1378 2505 106 -1378 1857 106 -1378	-1378 -1378 -246 -106 -1378	108 1378 1186 106 1378
-662	399 -701 41	-701 -1341 -267 104	399 -3026 1013 399 -617 -4167	389 149 399 701	389 -701 -1402.	247 299 399 399 299 299	399 3634 399 101-	207 399 -701 111 399 -701
-4413	-381 -1115 -906 -381	-1115 -4348 -382 -5804 1059	-381 -1115 -2191 -381 -1115 3055	-381 -1115 -4487 -381 -1115	3644 -381 -350 -350	.115 .115 .2102 .381 .381 .415	.381 -1115 -573 -381 -1115	-181 -381 -1115 -4408 -381 -1115
1573	43 4581 4581	894 874 874 874 895	43 4015 43 -894 -3810	-894 1181 43 -894	468 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43 43	-894 -2584 -2584 -894 -894	- 886 - 986 - 43 - 894 - 43	2498 43 44 43 43 43
1457	233 11527 -5217	234 108 234 -1503	233 10936 4645 233 10986 -613	233 2491 233 233 11527	-148 233 11527 394 233	11527 1186 233 11527 3142 233 11527	1226 233 11527 165 233 11527	529 233 11527 -2468 233 11527
	•	•	•		•	-10485 - -3224 -500 -10485 - -10485 -	-	
	•					-2746 -149 -149 -149 -149		
307	308	309	31. 34 35.	313	314	316	349 348	320

470	471	472	473	474	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	
-3593 -249	-283 -249	-1010 -249	-2781 -249	-4269 -250	-2402 -249	-1940 -249	743 -249	12 -249	1369 -249	-591 -249	-3189 -249	1210 -249	-3093	1482 -249	
-294 -294	-3195	-294 -294	-3452	-4706 -295	-3084	-2366 -294	3483 -294	-3891	294	-294	-3872	2776	3776	-2222 -294	
-1228 ·	1440	509 -369	322 -369	-3536 -370	-2520 -369	1115 -369	-585 -369	-626 -369	-1063 -369	.369	-3311 -369	-1017 -369	-3214 -369	-1755 -369	
-202	400	-1331	-666	-2222 117	-1370	-1570 117	155	-935 117	-51 117	446 117	857 117	-2075 117	969	-720 117	
534 359	20 359	1242 359	518 359	-1961 359	218 359	-1881 359	458 359	425 359	-296 359	14 359	1184 359	86 359	1133 359	989 359	
-205 96	-3855 96	213 96	1381 96	-3520 95	692 96	383 96	-1954 96	751 96	-2483 96	-2091 96	-283 96	471 96	658 96	-98 96	•
-720 45	-1121 45	478 45	791 45	-2685 45	1034 45	-1491 45	709 45	1918 45	-2003 45	-1544 45	-206 45	2031 45	752 45	2049 45	
546 394	129 394	-3713 394	-2902 394	3218 393	-2498 394	-2961 394	-3066 394	-3324 394	-3613 394	-3434 394	1787 394	-988 394	-3187 394	-1798 394	
1550 275	-363 275	-2274 275	55 275	2243 277	2083 275	675 275	-1885 275	832 275	-883 275	1912 275	781 275	-1944 275	947 275	2085 275	
-3181 -720	-1944 -720	-3095 -720	-2352 -720	-3836 -714	-1989 -720	1506 -720	-1509 -720	-231 -720	921 -720	-2908 -720	-2778 -720	-2247 -720	613 -720	-1233 -720	3/32
4108	275	-562 -466	-1378	4654	-2914 -466	-1854 -466	4 <del>4</del> 4 4 4 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6	-1033 -466	672 -466	-3829 -466	-56 466	-3052 -466	-823 -466	-2097 -466	* Tabelle 4, Blatt 23/32
1050	-3946	57 210	-168 -108	-3135 210	-646 210	1866 210	-142	745	-803 210	1051	469	-1580 210	159 210	1349	_ Tabelle 4
4164	-70	-1596 -626	532	4556	.2967 -626	-1567 -626	-51 -54 -58	146	-389 -389 -826	-814 -626	-3760 -626	623	-3664 -626	-2144 -626	<b>»</b>
<b>4</b> 2		-1378 605 106		-2893 -64 -64 -64	-	•	-268 -1712				•	•	-	8 5 9	
575	.701- 1982		55- <del>2</del> 8	.4529 1586	1602 1017	-4118 -2890	.2560 -1027	-925 -1338 -1338	2687 1948	-1687 1049	-3306 -257 -257	-582 -582 -582	-3279 -343 -349	4043 -1691 399	4530
4414	1303	-381 -1115 2076	-3561 -3561	-1115 4644	4787 456	-1115 2376	-301 -1115 2146	-1115 -920	-1115	-301 -1115 -624	-1115 -4010	-1115 985	-3913 -3913	-1115 -2376 -381	-1115
641	-894 -1789	2 8 4 5 4 4 5 5 4 5	-44. 44.	-894 -2154	5 5 5 5	-894 -1796	284 53	-245 -245	-894 -965 -	. 5 <sup>8</sup> 45	-894 -269 -269	. \$\frac{\phi}{2} \frac{\phi}{2} \fr	-894 -676 -676	8 8 8 8	-894
														233 233 233 233 233	
4092	-500 10485 - -2743	-500 -3965 -3965	-500 10485 -3258	-500 -9527 -2600	-500 -1305 891	-8991 -1974	-500 -9057 -2342	-500 -9370 -3702	-500 -10054 -2946	-500 -10061 -3817	-500 -10186 -3689	-500 -10010 451	-500 -9856 -3592	-500 -2121 -500	-7361
202	-149 -1 - 1505	-149 -1 -	-149 -961 - 54	-149 -1288 -1841	-149 -3410 -1431	-149 -355	-149 -4 -1797	-149 -3 176	-149 -41 -2358	-149 -255	-149 -178 -2215	-149 -157 -1053	-149 -2120	-149 -2547 -796 -149	-697
														336	

494 495 489 490 -249 -249 -249 -249 294 2275 294 294 294 294 294 294 294 294 4222 -294 -294 -294 -294 -294 -369 -369 -260 -369 -369 -369 -61 -61 -369 -369 117 117 -163 117 905 117 -293 117 117 117 -784 117 359 359 359 359 359 -102 359 509 359 359 359 359 359 359 359 359 .1274 96 1067 96 96 96 -921 96 96 -2339 96 96 45 -1394 45 -798 45 45 1143 45 45 45 45 4<u>8</u> 8 394 .1693 394 3720 394 394 -949 394 394 394 394 1426 394 398 398 394 275 275 279 275 275 275 275 275 1176 275 275 275 -531 275 275 275 -720 -720 -720 -720 -720 -3181 -720 -720 -720 -720 -720 336 -720 -720 -942 -466 -1722 -466 -2362 -466 -1981 -466 -688 -688 -466 -759 -466 -332 -1987 -1987 -106 -1106 -1106 -1378 -2258 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 -2293 -106 -1378 399 399 -1837 -1837 -1837 -1771 -1761 -1761 -179 -1701 --1517 -381 -1115 -381 -1115 -1 149 1734 17 338 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 349

-249 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -249 -879 -249 -250 -249 -250 -249 -654 -249 249 294 294 -294 294 294 294 -369 -369 . -369 -369 -369 8 8 369 -369 -369 -370 -370 -370 -369 -369 . -783 -369 -369 369 369 117 117 117 117 -349 117 -297 117 120 117 117 -291 117 117 117 85 88 88 35 35 359 359 85 gg -915 359 -647 359 359 359 359 359 359 -721 96 1508 96 96 96 -16 -98 -6--6-95 96 .573 96 , 98 8 45 45 45 -729 45 45 -635 45 45 \$ 5 . 51 -213 45 394 394 394 394 394 393 394 .795 395 394 394 394 275 275 275 275 275 278 -729 275 275 275 276 275 275 -720 -720 3172 -720 -720 -720 -720 -721 -720 -721 720 720 720 -466 -633 -467 -3090 -466 -939 -466 -12 -12 -466 -466 -466 -466 -466 466 466 466 466 466 -381 -381 -381 -381 -381 -381 -382 -381 -382 -381 -381 -115 -404 -381 -115 25 233 233 11527 4984 4284 1385 233 233 138 233 233 233 233 235 11527 1115 233 10984 233 11527 -284 233 11527 -5208 233 11527 -5208 233 11527 -539 233 11527 286 - 149 - 353 354 355 356 357 357 360 360 367 367 367 367

521 522 523 524 524 526 -249 -249 -249 -249 -249 -250 -269 -269 -269 -279 -279 -279 -279 -279 -279 -249 -295 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -294 -295 -295 -107 -369 394 -369 -369 .1193 -370 -369 -369 .2290 -369 -369 -369 -369 117 468 117 117 -117 116 -1555 117 -1457 117 117 117 117 117 359 359 359 358 359 359 894 359 359 359 359 .637 359 359 359 -2731 -1397 -3925 -96 96 96 -881 96 .2885 96 96 .1448 96 96 -868 96 96 -623 45 55 45 45 -871 45 1644 45 45 45 48 45 1762 45 45 394 394 394 384 393 39 43 43 394 394 394 394 394 -613 275 -855 275 274 1334 275 -897 275 275 -755 275 275 275 275 275 275 -970 -721 -2238 -720 -721 -720 -720 -2360 -720 -720 -720 -720 -720 720 .1922 466 4078 4210 4210 466 .2739 466 .3150 467 .3152 466 -791 466 1303 466 466 -466 -466 -894 -895 -149 368 369 370 371 372 373 374 375 376 376 378

535	536	537	538	539	640	541	542	568	920	571	572	573	574	575	
-815 -249	561 -249	-177 -249	-3531 -249	-3532 -249	-2806 -249	-2662 -249	-1539 -243	-3620 -250	1075 -249	3302 -249	-2324 -249	-2088	-2361	-3297 -249	
294	3597	353	4213 -294	4214 294	-3488 -294	-3420 -294	-2198 -269	-3808 -295	-2674	2248	-2971	2205 294	2000	-294	-
-2291 -369	-3301	-1720 -369	-611 -369	-1484 -369	-2925	-2848 -369	-1600 -375	-2263 -370	396 -369	-2449 -369	-2443 -369	1849 -369	-2478 -369	-3385 -369	
1630	-2599	-2560 117	229 117	-2497 117	-55 117	-1645 117	1175 119	-1074 117	-1017	-3036	-1317 · 117	-1321 117	-1330	-2286	
-3281 359	755 359	-911 359	359 359	529 359	1233 359	-1496 359	492 364	1540 359	-974 359	-3353 359	-1268 359	-1382 359	-1272 359	821 359	
-3539 96	-2512 96	-59 98	-1142 96	1503 96	474 96	-1539 96	-320 90	-3042 95	373 96	-3598 96	2615 96	809 96	1114 96	1116 96	
12 45	-531 45	-1802 45	¥ 4	1007	-1008 45	1497 45	202 51	-2759 45	-277 45	-3165 45	1215 45	995 45	1191 45	504 45	
4307 394	-3791 394	902 394	-1558 394	1382 394	1064 394	-2559 394	560 393	-2284 393	-2156 394	4225 394	-2432 394	-2521 394	394 394	-3421 394	
762 275	-246 275	167 275	1729 275	312 275	849 275	673 275	-219 279	-2079 277	-712 275	186 275	-982 275	-1174 275	-1002 275	-1971 275	
1430 -720	-2881 -720	725 -720	-3118 -720	-3120 -720	-2393 -720	-2368 -720	-1100 -715	-2716 -721	1101 -720	-2078 -720	975 -720	-1500 -720	-1947 -720	321 -720	/32
223 466	-3711 -466	-1746 -466	-1661 -466	-4047 -466	-1031 -466	8 8 8	-1999 -471	-3599 -466	-2473 -466	986 466	-2815 -466	-2303 -466	-2872 -466	672	Fabelle 4, Blatt 27/32
-3421 210	-705 210	785 210	739 210	• 967 210	-107 210	962 210	1436 205	-3117 212	, 1705 210	-3727 210	723 210	869 210	1621 210	. 210	abelle 4
-2390 · -626	-1076 -526	4124 -626	-1612 -626	201 -626	-3373 -626	-3308 -626	-2015 -632	-3308 -627	-2487 -626	-2480 -626	-2875 -626	640 -626	659 -626	-3812 -626	_
232 106	-1378 -2380 106	-1378 -2259 106	-1378 -117 106	-2190 106	-1467 -106	-64 -1205 106	4 8 6	-74 -2789 105	-248 -726 106	-42 -1573 106	5 5 8 5 8 5 6 6	-185 -185 -185	-145 -1023 106	-1694 -71 106	<del>1</del> 01-
989 389	-701 2389 399	-701 1244 399	-701 -1340 399	-1898 698 399	-1898 -614 399	4520 547 389	-5157 -1557 407	-1512 -1512	-2662 -2064 399	-5129 -4239	-3497 -2343 399	-5040 -2440 399	-3388 -2365 399	-533 -3328 399	000
. 1894 - 381	-1115 -253 -381	-1115 -92 -381	-1115 334 -381	4352	-1115 -3623 -381	-1115 -3524 -381	-1115 -2289	-132 -3572	-5048 -2759	-1115 1528	-1115 -3146 -381	-1115 -2536 -381	-1115 -3176 -381	-1115 -570 -381	G111-
84 83	-894 -2134 43	89 45 4 45 45 4	-894 -1002	-52 48	-894 -1134 -434	94 5	972	3521 -3163 45	4 <del>8</del> a	-894 4013	. 88 ± 84 ± 84 ± 84 ± 84 ± 84 ± 84 ± 84	484 1183 84	-894 727 43	-894 -1664 43	-89 <del>4</del>
-4241 233	-11527 -986 -333	1550	7386 7386 7386 7386 7386 7386 7386 7386	-1457 -704 -204	-1133 1598 233	2685	43 <del>1</del> 28 8	-2354 -3035	292 292	-9503 1818	9509 148 148	-9758 -1493	-9758 465	-9978 288 233	-11204
2114	-3754 -3754	-4070 -4070	-10485 -4029 -4029	4031 4031 4031	-304 -3304	-9537 -3241	-8368 -1975	632 4-12 4-12 124	-257 -2471	-8461 -2830	-300 -8461 -2812	-2365 -2365	-8715 -2857 -500	-8936 -3773 -500	-10162
	-	-												835 4 4 149	
														396	

576	577	578	579	. 280	581	582	583	584	585	586	587		;	290	: :
 1959 -249	-3503 -249	-2908	-681 -249	2319	-2900	1656 -249	-503	-2822 -249	-2918 -249	578 -249	-3592	2967	-249	877	*****
3543	4184	-294	-3175 -294	1884	-3267  -294	890 -294	870 -294	-294	-3266 -294	2168 -294	-294	2264 -294 	-294	-294	
986 -369	-3619 -369	-2284	-566 -369	-314 -369	1282 -369	505 -369	-558 -369	-1289 -369	-2226 -369	-369	-1727 -369	-369	-1415 -369	1067 -369	
-116 117	117	-758 117	-2818 117	-794 117	257 117	-2851	. 653	-2821 117	2532 117	-2817 117	-287 117	117	4041 117	2168	,
-750 359	-1394 359	-795 359	-3496 359	9. 359	-142 359	-1749 359	-762 359	-3512 359	359	1072 359	359	359	-1285 359	359	
-177 96	1325 96	-3454 96	-3952 96	-171 96	-3627 96	4014 96	-3972 96	3983 96	-1461 96	1338 96	1482 . 96	-1750 96	437 96	-1081 96	
-2353 45	-526 45	1410 45	-750 45	-862 45	-3320 45	-3835 45	1015 45	-259 45	-3694 45	-3794 45	-56 45	356 45	-5548 45	-712 45	
-3925 394	-29 394	4253 394	4466 394	4454 394	-4343 394	4507 394	4472 394	4477 394	4463 394	4472 394	2750 394	-2792 394	-5195 394	4447 394	
-665 275	-2145 275	66 275	4034 275	1587 275	-1268 275	4102 275	4060	-1301 275	-3967 275	-1329 275	-524 275	540 275	4794 275	966	
-193 -720	797	2476 -720	-1920 -720	924	571 -720	-1929 -720	2607 -720	1741	573 -720	1453 -720	-3180 -720	-1061 -720	-5871 -720	475 -720	3/32
530 466	-1778	2276 -466	585 466	417	185 -466	455 466	1293 466	2348 466	817 466	978 466	-1839 -466	-235 -466	-6793	-2578 -466	Fabelle 4, Blatt 28/32
-838 210	2491	-3309 210	4122	4070	.1305	4215	4 56 .	4181	4015	4168	-929 210	-1415 210	-6019 210	4034	Tabelle 4
1277	-7-	-1220 -626	415	-1143	886 526	833	2104	-67	-1241	-705 -626	-1792 -626	-1493 -626	-6578 -626	1500	·
-2575	-353 -2167	1380 106 106	-2148 -3284	-1378 -3266	-3108 -3108	-1378 -3317	-1378 -3292	-1378 1872	-1378 -3299	-1378 2392 106	-1378 -2252 -252	-1378 -1460 106	-5627	-1378 -346 106	-13/6
-1232	.2206 -3509	-699 -1419	88. 88. 89. 89.	-701 -922 -922	-701 -765	-701 -458	-701 -4422	-701 -427	-707 -727 -272	-701 -1169	.3593 .3593	1324 399 399	3626 399	-701 -4395 399	<u>[</u>
-3221	-381 -1115 -4317	-361 -1115 -2836	-381 -1115 -2673	-1115 -280 -280	-301 -1115 -2798	-301 -1115 2973	-361 -1115 -2661	-387 -1115 1419	-301 -1115 -2774	-361 -1115 278 278	-1115 -4411 -381	-1115 277 -381	-1113 -6763 -381	-1115 -875 -381	-1115
-864	-894 -525 -525	-894 -3531	-894 -4507	444 442 442	350	-89 t	4 8 8 6 c	4585 4585 4585	4359	-894 -4569	48 48 48 48 48	-894 -1557 43	-584 -5491 43	-894 -4396 - 43	-894
-879	233 -11426 1738	-1426 413 413	-1489 -189 -18	233 -11527 -5068	233 -11527 -4410	-11527 -5254	233 -11527 -5197	233 -11527 -5221	233 -11527 -4966	233 -11527 -5204	233 -11527 834 233	-590 -2115 233	-9952 -1531	-11627 -5019 -5019	-11527
-3170	-500 -10384 -3999	-500 -10384 -2854	-500 -10447 75	-500 -10485 -2722	-500 -10485 -2826	-500 -10485 -2736	-500 -10485 -2707	-500 -10485 -249	-500 -10485 -2789	-500 -10485 504	-10485 -4091 -500	-10485 -1882 -500	-8910 -4239	-300 -10485 -2728 -500	-10485
823	-149 -2534	-149 -258	-149 -2 2748	149	-149 -1 2091	-149 -1 -316	-149 -1 -2877	-149 -102	-149 121	-149 -1	-149 -197 -149	-1579 108 -149	4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4	-149 -149	7
397	398	399	6	6	405	- ' 403	. ' 6	. 405	. 406	. 407	408 .	409	410	44 .	

591	592	593	594	595	296	297	598	299	009	601	602	603	604	
-4852 -249	1877 -249	-5951 -249	4339	3906 -249	-6442 -249	1627 -249	-936 -249	1810 -249	1570 -249	382 -249	-3591 -249	638 -249	393 -249	258 -249
-294	3440 -294	-294	2816	1026 294	-6941 -294	-294 -294	-294 -294	2033	-4504 -294	2604 -294	-294 -294	-294	-294	1977
-587 -369	1009 -369	2105 -369	-6169 -369	-4336 -369	-5576 -369	-3737	-1215 -369	-331 -369	-3889	-1236 -369	-1726 -369	-3615 -369	500 -369	-3583 -369
483	-1390	232	-6976 117	-3584	4212	1067	-1030	-2813	404	-830 117	2247 117	424	473	-314
-885 359	-46 359	-6511 359	-6634 359	1462 359	525 359	-2525 359	-1370 359	491 359	49 359	-1247 359	744 359	-2402 359	-580 359	359 359
-5002 96	174 96	-7081 96	-6768 96	-3807 96	.53 96	-747 96	-265 96	-3927 96	-2699 96	445 96	-2341 96	-2243 96	-2233 96	533 96
4708 . 45	794 45	-6860 45	-538 45	1972 45	4749	1591 45	-1821 45	2001 45	-2104 45	413 45	-579 45	-162 45	613 45	-558 45
3885 394	-1071 394	-6917 394	-7240 394	4701 384	-38 394	-65 394	-3702 394	4456 394	-1378 394	4294 394	111 394	-3587 394	-566 394	394
-4554 275	-493 275	-6819 275	-5995 275	46 275	4169	-2247 275	-542 275	-844 275	-2448 275	-1012 275	301 275	1846 275	48 275	1373 275
-3960	-2214 -720	. 268 -720	1996 -720	-4070 -720	: -5927 -720	-3206 -720	1023 -720	905 -720	-3405 -720	3600 -720	-225 -720	-3083 -720	-3073 -720	113 -720 3/32
-1705	159 466	-3594 -466	-5320 -466	-4822 -466	-6784 -466	4131 466	-1825 -466	4 4 7 4 8 6 6	-1667 -466	4 66	-2200 -466	466	466	-3977 -466 - Blatt 29/32
-1470 210	467 210	* -6962 210	-7401 210	-3410 210	-5288 -5288 210	-1860 210	-681 210	4078	-2183 210	3495	238	-51	326 210	1214 210 Tabelle 4,
-4375 -626	504 -626	3284 -626	-6013 -626	4733	-6677	4185 -626	4056	1638 -626	4291	-1113	-1155 -676	4063	4054	
4650	-1378 -2866 106	-1378 -7004 106	-1378 -309 106	-1378 -3510	-1378 -4973 106	-1378 1940 106	-1378 -2271	-1378 -1378 108	-1378 664	-1378 -3056	177	-1378 -131	-305 -153 -153	-305 -166 106 -262
-1375	-701 -4097 399	-701 -7166 399	-701 -7386 399	-701	-701 3298 389	-3611 -3611	1292 1292 1292	-701 -1417	2854 2854	-701 -114 -200	.328 -367	2430 2430	-2391 1631	.2391 489. 399 -2590
-4778	323 323 381	-1115 262 -381	-1115 2309 -381	-1115 4183	-36 -1115 -6820	-1115 -1241	-1115 -618	-301 -1115 1571	-1115 -4563	-115 308 308	4466	-1115 75 75	-1115 601	-1115 -4283 -381 -1115
-5211	-894 -3127	-894 -7027	-894 -7856	-894 -3359	4 2 2 2	-894 1526	3238 3238	-894 -1279	98 4	-894 -1922	\$ \$ 26 5	-89.5 -617.5 -617.5	2 8 5 2 5 5 5 5 5 5 5 5 5	-894 -877 -894 -894
-5545	733 -733	11527 -7370	11527 -7502	.11527 -3604	633 633	2070	2521- 7521- 1060-	233 -11527 -5079	233 -11527 618	4914 -1486	-11479 1128	833	11404 1222 1223	233 233 233 -851
-3750	-500 10485 - 2352	10485 4293 - 4293	- 5045 -6045	4302 · ·	-500 -10485 -4606	4116	-500 -10485 -4031	-500 -10485 -2720	-500 -10485 -4290	-10485 598	-500 -10437 -4087	-500 -10485 -3993	-500 -10362 -3984 -3984	-500 -10362 -3961 -500 -10334
														-149 -30 127 -149 -1169
412	413	414	- 415	416	- 417	418	- 419	- 420	- 421	- 422	- 423	- 424	. 425	426

909	209		809		612		614		615	:	616	•		2		627			629		631		633	760		633	٠	634	•	Ċ	3		
. 249 -249	-2458	-249	-2204		-1511	167-	-2217	-248	1948	-249	-5251	-249		os /7-	767-	-1201	-250	,	-1909	7.20	750	-249	6	-2204		448	-249	-712	-249		-249		
234	-3148	-594	3918	. —	1890	2 7	-2898	294	-2990	294	-6158 -6158	294		-3243	, ,	-1662	.295		-2412	-282	-3874	-294		2932	-	4023	-294	4045	-294		-297 -294 -294		<del></del>
773	-2586	-369	-2248	80?-	496	-326 -	972	-369	-2055	999	-5704	-369		-2164	-362	-304	-370		-1484	-370	-3252	-369	(	312		-3437	-369	-1038	-369		-3504 -369		
-1675 117	1160	117	-1240	È	-1319	122	-1186	117	-552	117	4304	117		1385	<del>-</del> -	1361	117	:	-987	117	-2257	117		-946	=	-976	117	700	117	•	410		
-256	452	329	834	328	-1790	328	1202	328	-2445	328	-3918	359		-873	328	737	350	3	-970	360	.912	359		214	e C	-1148	329	.213	359		683 350	3	٠.
-2642 96	-1217	96	2967	8	-2009	8	651	96	-2508	96	677	96	3	-1831	93	Ç	676 676	9	-1362	8	207R	95		-2142	£	2733	96	6840	8		909	3	
-294	99	. 45	-489	4	-1651	4	649	45	8	42		45	?	-1234	43	Č	ရှင် ရ	Ç	-939	45	320	5. A5.		65	<del>2</del>	42	45	907	45 45	:	-122	3	•
-708	989	394	-2373	394	191	392	-2315	394	1008	394	3000	2050 204	5	-2118	394		-1864	486	-2133	395	7076	5 5 5 5 5 5 5	3	-3467	86 86	3481	394	6	265°	·	-187	t D	
-2687	2/5	275	-940	277	-2001	276	858	275	2452	275	700	-2/04 275	27	3091	278		2411	717	2383	277	1	9 6	3	2472	275	-2032	275	3	187 275	3	449	2/2	
. 026	-720	-720	-1750	-722	929-	-722	030	-720	4776	-720		4750-	3/-	-2184	-723		403	-721	3596	-721	į	-2762	27-	-2818	-720	2922	-720	;	-2944 22	3	1209	-720	132
-1506	99 69	466	-2635	468	353	467	7070	466	Š	- 49 - 49 - 49 - 49 - 49 - 49 - 49 - 49		-6026	4 8	-3025	468		-1043	466	-2033	466	1	-705	ş	-1918	466	7967	466		-3826	B	\$	466	, Blatt 30
-2665	210	210	* 422	212	-1845	508	• 6	210	* 6	210	•	-1184	210	-1441	82	•	-61	210	1020	210	•	-345	212	-1645	210	* 88	210	•	786	217	280	210	Tabelle 4, Blatt 30/32
1132	-626	-903 -626	• 2630	-628	* 000	-628 -628	•	9717-	•	929 -829 -829	*	-6205	• •	2804	-623	•	1389	-624	101	-627	•	-915	-626	691	-626	* 7000	- 200	*	945	979	-3948	• 29	
-2061	151-	- 8 8	48	\$ \$	12-	5. <u>\$</u>	ဆု		56	-2211 106	-250	-3437	<u>දි</u>	, .	112	မ္	-728	105	-107	55	-1945	-1977	9 2	-35/ 428	5	-311	-2049 106	-312	-2067	<u>පි</u> දි	-2056	5 5 5	9
	3333	736 399	4938	400	4263	5 5 5 6	-4205	6 6 6 6 6	-997	-1 38 80 80 80 80	-2650	-1353	38	-3963	400	-5349	-1618	398	-3801	3 3 3 5 6	4 4 4 4	-1542	389	-405/	38	-2369	1288	-2362	303	9 9 9 9	839 839	399	-1934
1776	-381 -1115	-3283 -381	-1115	-378	-1254	-1446 -382	-6308	-3030 -3030	-115 -115	8 5	-115	-6338	-38	-1115	383	262	-1277	-378	4184	2142	4987	492		כווי	, <u>8</u>	-1115	4126	-115	-977		554 1504	381	-1115
408	43 494	11 24 24	89.	ф 8	-784	 54 74	-19	904	4 8	-2324	- - - - - - - - - - - - - - - - - - -	-389	€.	-894	-1067 25	2502	-725	43	82	945	ξ <del>4</del>	-265	. 43	-894	ž &	-894	<del>1</del> 040	4 5 5 5	1293	54	-894 -1724	5	-89 <del>4</del>
.3572	233	465	-2391	1871 233	-9685	1505 233	4066	176	-9771 -	3026	10893	168	233	-266	-1043 23 52	2000	-1115	233	-2440	- 189 189	.8465 2465	2713	. 233	-11161	- <u>-</u> 23	-11234	-136	-1769	-2291	233	-11297	233	-3060
1853	-500 -9169	-2965	-300 -8946	1409	-713	-1464	96.	-2712	-500 -8729.	-2598	-500	-6085	8	-9938	-1577	, , , ,	71/-	2005	-746	-1512	2, %	22	- <u>5</u> 2	-10119	מניל. מניל.	-10192	3398	-500	1100	95	-10255	<u> </u>	-10255
	4 - 4 64 - 48 64 - 48	•		•	•	•	•	•		•																							
Ş	)76	428		429		430		431		432		433	? .		434		, ,	4 5		436	•	437	₽.	•	438		439	, .	. 440		. :	Ī.	•

636	637	638	. 639	640	641	642	643	644	. 659	099	661	662	663	999
-3152 -249	1195 -249	1654 -249	-3442 -249	227 -249	2123 -249	670 -249	-640 -249	-2951 -244	-1787 -249	-2595 -249	402	2663 -249	-3359 -249	853 -249
-3759 -294	2049	4459, -294	4124	1707	-3725	4147	4048 -294	-3640 -261	-2141 -294	-3255	2785 294 294	-3560 -294	4041	4154
-3065	-1510 -369	-515 -369	-723 -369	-1049 -369	-1416 -369	-804 -369	-3486 -369	-3079 -378	-78 -369	-2651 -369	-1752 -369	-2769 -369	-383 -369	-527 -369
365	-1039 117	33	-503 117	-2401 117	832	-812	982	739 125	1793	700	-885 117	-2290 117	205	-962 117
196 359	-1188 359	-3268 359	1074 359	359 359	-520 359	-1403 359	483 359	360	1106 359	-444 359	-1428 359	451 359	175 359	-2393 359
-577 96	871 96	-3734 96	716 96	488 96	-2447 96	609 96	1382 96	698 94	488 96	477	-3406 96	1402 96	179 96	170 96
-1624 45	683 45	-908 45	599 45	-1774 45	-585 45	1063 45	1106 45	-1143 42	-2483 45	-871 45	-710 45	140 45	2036 45	1711 45
-3452 394	1881 394	-823 394	-1468 394	275 394	-3681 394	744 394	-3460 394	-3027 385	-3340 394	-26 394	4001 394	-1131 394	37 394	-831 394
2087	908 275	-3820 275	1286 275	-2203 275	-506 275	1233 275	-738 275	1526 274	-2784 275	994	-3463 275	-2198 275	227 275	-137 275
2480 -720	1222 -720	1178	-3030 -720	-2706 -720	855 -720	-3053	-235 -720	-2550 -701	910 -720	512 -720	224 -720	-2394 -720	-120 -120	-3057 -720 1/32
-434	-3762 -466	18 466	-1627 -466	-3541 -466	-505 466	3980 466	-292 -466	-3473 473	120 -466	<del>2</del> 4 8	1807	-1777	-244 466	-358 -466 1, Blatt 3'
-1675 210	-1532 210	-3923 210	967	-1827 210	-113 210	\$896 210	913	-283	715	-914 210	24 .	824 210	612 210	105 -358 -3 210 -466 - Tabelle 4, Blatt 31/32
-749	-1353 -626	-952 -626	-1114	-1653 -676	749	4035	-1451	3530	-73	-3058	183	290 590 590	-277 -277 -626	
-2036	•	•			-									-1071 597 106 -297
-713	.3527 -151 399	-1708 248	-1427 -979	2734 170	.2217 -3595 -3595	-1655 -3465	-2571 -1034	3170 -61	.3286 -3286	-3750 -2656	-981 -3947	-2224	-524 -1336 -1399	-932 -1165 399 -2427
589	-381 -4059 -381	-1115 1165	-1115 779	-1115 -1033	-361 -1115 889	-115 28 28	4185	-301 -1115 -3776	-387 -188 -1577	-1115 318	-361 -1115 -26 -28	-115 1305	-1115 -4178 -381	-1115 812 -381 -1115
														89 4 89 4 89 4
1165	233 -11162 -781	-11162 -1427	-11264 624	4889 1602 1602	-11304 267	-11331 -282	-368 -368 535	2309 2309	242 -2132 -3708	-10276 372	-10354 4412	-11056 -2499	233 -2891 39	-11256 -624 233 -11399
-3504	-500 -10119 -3751	-300 -10119 -2472	-10222 -3941,	-500 -10311 2734	-500 -10262 -3417	-300 -3964	-500 -10337 -3864	-500 -10222 -3458	-509 -1480 -1691	-500 -9234 1159	-500 -9312 -2335	-10014 -3251	-500 -10101 -3858	-300 -10214 -3966 -500 -10357
-848	189 - 149	5. 2. 45	-149 -2 -818	25 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 55 5	\$ ° 7 \$ 5	-2 -2 -497	-149 -117 -446	-149 -618 -1976	-147 -1274 -159	249 4 4 9	-149 1069	-149 -2 277	-149 -210 -950 -950	-149 -2 728 -149 -2
442	443	\$	445	- 446	44	, , <del>\$</del>	. 449	. 450	. 451	- 452	. 453	454	- 455	- 456 -

								_
999	999	199	899	699	670	671	672	
493 -249	-721 -249	-564 -249	-2822	-249	333	-2821 -249	-5419	••
-294 -294 -294	4164	956	-3165 -294	-3513	4275 -294	1583	-5467	-
805 -369	-3602 -369	-3603 -369	405 -369	1203 -369	-3714	212 -369	-5825	
2705	102	246	-2817 117	-373	-1440 117	403	4930	
-107 359	497 359	926 359	-1315 359	-610 359	879 359	-646 359	-5184 •	
-3867 96	-298 96	96 96	1634 96	3103 96	8 8 8	-3971 96	3918	
-3689 45	1327 45	-578 45	4 4	449 45	-79 45	-3790 45	483	
4361 394	-830 394	459 394	394	4111 394	565 394	4471 394	-5670	
-3956 275	-992 275	753 275	-4058 275	1311 275	810 275	4058 275	4432	
-1794 -720	-115 -720	-3070 -720	2808 -720	-2294 -720	-3181 -720	-1910 -720	<b>&amp; •</b>	
377	-2375 -466	-3997 -466	1812 -466	4 466 466	-518 -466	1067 466	-5643	
-1564 210	2057 210	1359 210	4160 210	- -2790 210	-609 210	-i193 210	-2098 0	
2992. -626	-250 -626	± -4052 -626	-193 -626	1522 -626	4164	• 636 • 629	-1505	
.3183. 106	-297 -2141 106	-297 -2141 106	-3104 -3291 106	-1378 -2791 106	-1378 1287 106	-1378 -3291	-1378 2106	
-1573	-2427 -3482 399	-2427 961 399	-178 -1787 399	-701 -1460	-701 692 399	-2059 -2059	-5764	
. 188	4301	-1115 -4302	-1115 -2662 -381	-1115 -3135	-1115 -4413 -381	2589	-1115	
4470	. 469 4 885 4 885 4 885	689 488 488	-894 -4559	-894 -2942	-287 -287 -287	-894 -1784 -1784	-894 -1531	
-5105	23 11399 870	-11399 -2356	-11399 -5193	-11527 1889	.11527 352 352	-11527 -5195	-11527 -6219	
-2591	-500 -3980 -3980	-500 -3981 -3981	-10357 504 504 504	-300 -3114 -3114	-1048 -2694 -2692 -3692 -3693	-300 -10485 -2707	-10485 -5869 	
	•	•	•	•	•	-	-149 -5309 * *	
457	458	459	460	461	. 462	463	. , 46 .	

Tabelle 4, Blatt 32/32

#### SEQUENZPROTOKOLL

<110>-Bayer-CropScience GmbH -

#### <120> Pflanzen mit erhöhter Aktivität eines Verzweigungsenzyms Klässe 3

<130> BCS 03-5005

<140>

<141>

<160> 6

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1004

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

#### <400> 1

tcaaactagt cacaaccagt ccatttctgg aggtcgttcc ttcgcagaaa tactgattgg 60 taactccttg gggaaatcct ccatatcaca agagtcatta cttagaggct gctcgttaca 120 caagatgatc agattaatta catctacaat tggtggtcat gcatacctca acttcatggg 180 caatgaattt ggtcacccaa agagagtaga gtttccaatg tcaagcaaca atttctcctt 240 ttcactggct aaccgtcgct gggatctatt ggaagatgtt gtacattatc aattgttctc 300 atttgataag ggtatgatgg acttggataa aaatgggaga attttgtcca gaggtcttgc 360 caacattcac catgicaatg atactaccat ggtgatttct tacttgagag gtcccaatct 420 ctttgtgttc aactttcatc ctgtcaattc atatgaaaga tacattatag gtgtggaaga 480 agctggagag tatcaagtca cattaaatac agatgaaaac aagtatggtg gtagaggact 540 acttggccat gatcagaata ttcaaagaac cattagtaga agagctgatg gaatgagatt 600 ttgcttggaa gtgcctctgc caagtagaag tgctcaggtc tacaagttga cccgaattct 660 aagagcatga tcactctagt aatcaaagtg cctcatatga tgacacaaaa ggaaaggttc 720 tacattgccc ttacactgat caatattgac acctttccga ggtgagtttc tgtgattctt 780 gagcagactg ttggctagtc aattatcatg aacttttgcc ttcagcatcc ggatagtcgc 840 ttctcctgtg caatgagggc atggacgaat ttttttttgg cttgtcatgg gggtcataag 900 catccgccag attaagattt cacaggcctc gagtaaaacc atcacttact ttaaggatac 960 1004 acaaacacac caacggggtg caggctctga taccttctaa agtg

<210> 2

<211> 2096 .

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

<400> 2

aacaatgctc tctctgtcgg attcaattcg aatttcttca ccattgagcg attctcgtct 60

```
tagttttcta tctcaaaccg gaagcagaac cagtcgccag cttaaatttg ttcgcagccg 120
ccgggctcga gtttcgaggt gtagatgctc agcaacggag caaccgccac cgcaacgacg 180
gaagcaacga ccggagaagt acaaacagtc ggaggaaggg aaaggaatcg atcctgttgg 240
atttctcagc aaatacggca ttactcataa agcgtttgct caatttcttc gtgaaagata 300
taaatcattg aaggacttga aggatgaaat attgactcgt catttcagtc tcaaggagat 360-
gtctactggg tatgaattaa tgggtatgca tcgcaacata caacatcgag tggatttctt 420
ggaatgggct ccaggtgctc gctactgtgc tctgattggt gacttcaatg ggtggtcaac 480
aactggtaac tgtgccagag agggtcattt tggtcatgac gattatgggt attggtttat 540
tattettgaa gataaattae gtgaaggaga agaacetgat aaattgtatt tteaacagta 600
caattatgcg gaggactatg gtaaaggtga cacgggtatt accgtcgagg aaatctttaa 660
aaaagcaaat gatgagtatt gggaacctgg agaagatcgc ttcattaaat cacgttatga 720
ggtggcagca aagttatatg aggaaatgtt cggaccaaat ggacctcaaa cagaagagga 780
actagaagca atgcctgatg cagctacacg atacaaaact tggaaagagc aacaaaaaga 840
ggatccggca agcaatttgc catcgtatga tgtggtagat agtggaaaag aatatgatat 900
ttacaatatt ataggtgatc ctgaatcgtt taagaaattt cgtatgaaac agcctcctat 960
tgcttactgg ttagaaacta aaaagggaag gaaaggctgg ttacagaaat atatgcctgc 1020
tttacctcat ggaagcaaat acagggtgta ttttaacaca ccaaatgggc ctcttgaacg 1080
agttcctgcg tgggccaatt ttgtcattcc agatgcaggc gggatggcat tagcagtcca 1140
ttgggaacca cctcctgaat atgcttataa atggaaacac aagctaccag tcaagcctaa 1200
gtccttgcgc atatatgaat gtcatgttgg catctctggc caggaaccaa aagtttcatc 1260
tttcaatgat tttattagca aggtccttcc gcatgtaaaa gaagctggat acaatgcaat 1320
acaaattatt ggagttgttg agcacaagga ttatttcact gttggatata gagtgaccaa 1380
tttttatgct gttagtagcc gttatggcac accggatgac ttcaagcgct tggttgatga 1440
agcacatggg cttggactgc ttgtcttttt ggagattgtg cactcttatg cagcagcaga 1500
tgaaatggtt gggttatctc tttttgatgg agcaaatgat tgctatttcc acactggtaa 1560
acgtggacac cacaaattct ggggcacacg gatgttcaaa tatggagatc ttgatgttct 1620
gcactttctt ctttcaaatc tgaactggtg ggtggaggag tatcatgtcg atggcttcca 1680
ttttcattcg ctctcgtcca tgttgtatac gcataatgga tttgcttcat ttactggtga 1740
catggatgaa tactgtaacc aatatgttga caaggaggcc ttattgtacc tcatattagc 1800
aaatgaagta ttacatgctc ttcatcctaa tgtgatcacg attgctgagg atgcaactct 1860
gtatcctgga ctctgcgatc caacatctca aggtggactg ggctttgatt attttgccaa 1920
tetttetgee teagagatgt ggettgeatt acttgaaaat acteetgate atgaatggtg 1980
catgagtaag attgttagca cattagtggg cgatagacaa aatactgata aaatgctttt 2040
gtatgcagaa aatcacaacc agtccatttc tggaggtcgt tccttcgcag aaatac
<210> 3
<211> 3204
<212> DNA
<213> Solanum tuberosum
<220>
<221> CDS
<222> (99)..(2804)
<400> 3
gaattgtaat acgactcact atagggcgaa ttgggccctc tagatgcatg ctcgagcggc 60
```

#### cgccagtgtg atggatatct gcagaattcg gcttaaca atg ctc tct ctg tcg gat 116 ... Met Leu Ser Leu Ser Asp

		٠.	•	- •	-				. ••	٠	M∈	t Le	u Se	er "Le	u Se	er Ası	•	•
			·		•		·		. <del></del>	,		1		,		<b>5</b>		
			·	•	•									٠				
	tca	att"	cga:	att	tct	tca	cca-	ttg	agc	gat	tct	cgt	ctt	agt	ttt	cta-	164-	
_	Ser	Ile	Arg		Ser	Ser	Pro	Leu		Asp	Ser	Arg	Leu		Phe	Leu		
				10					15					20		•		•
							acc									•	212	
	Ser	Gln		Gly	Ser	Arg	Thr		Arg	Gln	Leu	Lys			Arg	Ser	•	
	•	•	25					30	•				35.			•		
		•												•				
	_						agg										260	
•	Arg	Arg	Ala	Arg	Val	Ser	Arg	Cys	Arg	Сув	Ser		Thr	Glu	.Gln	Pro		
		40					45				•	50					•	
																		·.
		_		_			caa										308	
	Pro	Pro	Gln	Arg	Arg		Gln	Arg	Pro	Glu	_	Tyr	Lys	Gln	Ser			•.
	.55					60					65					70		
																		•
	_						cct										356	1 (A)
	Glu	Glu	Lys	Gly		Asp	Pro	Val	GI.		Leu	ser	Lys	Tyr				
					75				•	80					85		·	'' <del>'</del> ''
																4.4	404	
						•										ttg	404	
	Thr	His	ràs			Ата	GIN	Pne			GIU	Arg	туг			Leu		1 (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1
				90					95	•				100			•	
			4-4												222		452	
	_	_														gag Glu	454	05\$ , {
	гуз	Asp		-	Asp	GIU	TTE	110		Arg	пта	. FITE	115		. Був	Giu		
			105					110					113	•			• •	
	2 t a	tat.	aat	aaa	tat	a a	++=	ata	aat	ata	cat	cac	. 226	· ata	raa	cat	500	* •
	_					_		_		_						His	, 500	
	Mec	120		GLY	-7-		125		CLY	1100	****	130			. 011			
		120	,				123					250						
	cas	ato	r cat	tta	tta	gaa	Ltaa	ant	cca	gat	act	. car	: tar	: tat	: act	ctg	548	
	_		_		_	_		_			_	_		_	_	a Leu	- 20	
	135		F			140				1	145		, -,-	,-		150		
		•					,											
-	att	aat	: gad	: ttc	aat	. aac	tac	tca	aca	act	ggt	aac	e tal	c ged	aqa	 a gag	596	******
																g Glu		•
		1	E	<b></b>	155	_	<b>.</b>	<b></b>		160			-4-		169		-	

Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr Trp Phe Ile Leu Glu 170 175 180

ggt cat ttt ggt cat gac gat tat ggg tat tgg ttt att att ctt gaa

	gat Asp			_	_												692
	tac	Asn	Ēat	-			Tyr	gāť			_	Thr	ggt				740
	gag Glu	-				Lys			gat Asp		Tyr					Glu	788
	-	_			Lys				gag Glu	Val							836
	_	_		Gly					caa Gln 255						gaa		884
•			Asp	Ala					aaa Lys					caa Gln		aaa Lys	932
	_		Pro	gca				cca Pro	tcg				gta Val	. gat		gga Gly	980
	Lys	gaa	. tat			туг	aat Asn	att				cct	gaa			aag Lys	1028
					: Lys	Glr	, cct			ala	tac Tyr	: tgg				aaa Lys	1076
	_			J Lys	Gl	tgg			ı Lys	туз	ate			a Let	a cct	cat His	1124
		_	Lys	s Hi	c agg			r Phe	e Ası	aca			n Gl	y Pro	t cti	c gaa ı Glu	1172
	_	Va:	l Pro	t gc			a As	n Ph	t gt			o As	p Al	a ga		g atg y Met	1220
		360	ט				36	כ				37	U				

. .

		-	•													. <del>.</del>				1268	٠ ٠
	gca																			1266	.•
	Ala										Pro										
	375	· ·		·		. 3	80		•• •		•	385	• :	·/ :			- '	390	1		
•	aaa	cac	aag	cta	CC	a g	tc a	aag	cct	aag	tcc	ttg	cgc	at	a ta	at g	aa	tgt	:	1316	
٠-	Lys																				•
			-		39						400						05				
									•												
	cat	att	aac	ato	c to	:t a	ac (	caq	qaa	cca	aaa	qtt	tca	a tc	t t	tc a	aat	gat	:	1364	•
										Pro											•
	пта	Val	GI	. 41			-1			415						20		_			
				, <del>u</del> l	U										-						
							. 4. 4.		aa+	gta	222	<b>~</b> 222	act	<b>-</b> ac	ra t	ac a	aat	ac:	a	1412	
	Phe	Ile		•	s Va	al 1	ieu	PLO		Val	пλя	GIL	LAT			AT ,	7511		<b>~</b>		
			42	5					430					43	55						
										•									_	2450	
										cac										1460	
	Thr	Glr	ııl	e Il	e G	ly v	Val	Val	Glu	His	Lye	Ası	э Ту	r Pl	ne I	hr	Val	G1	У		
		440	)					445					45	0	•						
	•																				
										gtt										1508 <sup>-</sup>	
	Tyr	Arg	y Va	1 Tì	ır A	sn :	Phe	Tyr	Ala	(Va)	Se	c Se	r Ar	g T	yr (	Зlу	Thr	Pr	0	<i>:</i>	
	455						460					46						47		:.	
																				·	
	gat	ga	c tt	c a	ag c	gc	ttg	gtt	gat	gaa	a gc	a ca	t gg	gg c	tt 9	gga	ctg	ct	t	1556	
	Asr	Asi	n Ph	e L	vs P	\ra	Leu	Val	. Ası	Gl	ı Al	a Hi	s G]	Ly L	eu (	Gly	Leu	LE	≥u	, , ;	•
	-12-5			•		175					48						485			ţ	
																				;	
	ato	. ++	<b>-</b> -:	-a a	an a	att	ata	cac	: tc	c ta	t ac	a qo	a q	ca g	at	gaa	ato	g gt	t.	1604	,
	3703	, cc , nh	C T	-a a	7), ·	Tle	val	нія	s Se	г Ту	r Al	a Al	a A.	la A	ga	Glu	Met	: Va	al		•
	va.	L PII	e 110		90		<b>,</b>			49						500					
				4	90						_										
				4							<b>-</b>	+ +-	c t	at t	-+-	cac	act	t a	at:	1652	
	999	gtt	a t	CE C	CC		gat	99	a 90	a aa	.c .ga	- ~	,	T	be	ui e	Th	r G	j.		•
	Gl	y Le			eu	Pne	Asp	GT.		a As	n As	ip cy	, S I		515	1110	- 41.		-1		
			5	05					51	O				=	этэ						
																	· 			1700	
	aa	a cc	jt g	ga c	ac	cac	aaa	ı tt	c tg	g gg	c ac	ca c	gg a	tg 1	CTC	aaa	ra T	c g ~	ya 1	1700	, .
	Ŀу	s Ai	g G	ly F	lis	His	Lys	s Ph	e Tr	p Gl	y Th	ır A			Phe	гàг	тУ	r G	тХ		
		52	20					52	5				5	30							
	•										•				_						
	ga	t co	et g	at g	gtt	ctg	cad	: tt	t ct	t ct	t to	ca a	at c	tg	aac	tgg	ı tg	a a	ıtg	. 174	В
	As	p.P	ro A	sp v	Val	Leu	His	s Ph	e Le	eu Le	eu S	er A	sn I	Leu .	Asn	Trp	Tr	p V	al		
	53						540						45						550		
	æ	a a	acrt	at	cat	gto	ga	t go	jc ti	tc c	at t	tt c	at t	tcg	ctc	tcg	y to	c a	atg	179	6
	تا عم	ים וו	711 T	ľvr	His	Val	. As	p G	Ly Pl	he H	is P	he H	is s	Ser	Leu	Sex	s Se	er N	1et		
	61			- <b>,</b> - ·		555			•			60					56				•
							•				_										

														atg			1844
	Leu	Tyr	Thr		Asn	Gly	Phe	Ala		Phe	Thr	Gly	Asp	Met	Asp	Glu	
				570		•			575		•			580			
	tac	tgt	aac	caa	tat	gtt	gac	aaq	qaq	acc.	tta	tta	tac	ctc	ata	tta	1892
														Leu			
	-	_	585		-		•	590					595				
																•	
	gca	aat	gaa	gta	tta	cat	gct	ctt	cat	cct	aat	gtg	atc	acg	att.	gct	1940
	Ala	Asn	Glu	Val	Leu	His	Ala	Leu	His	Pro	Asn	Val	Ile	Thr	Ile	Ala	
		600					605					610					
														tct			1988
		Asp	Ala	Thr	Leu		Pro	Gly	Leu	Cys		Pro	Thr	Ser	Gln	Gly	
	615					620					625					630	
	aas	ata	~~~	+++	ast.	tat		~~~					<b>.</b>	gag	- A	4	222
												_		Glu	_		2036
	O	200	<b>U.</b> .y		635	-7-	rnc	AIG	VOII	640	Ser	ALG	Ser	GIU	645	тър	
							•			010					043		
	ctt	gca	tta	ctt	gaa	aat	act	cct	gat	cat	gaa	tgg	tgc	atg	agt	aag	2084
														Met	_	_	•
				650					655					660			
													-	aaa	_		2132
•	Ile	Val		Thr	Leu	Val	Gly	Asp	Arg	Gln	Asn	Thr	Asp	ГÀ2	Met	Leu	
			665					670					675				
	++~	+	~~~	~						- 4- 4-							
														cgt Arg			2180
	Deu	680	ALG	GIU	, Asii	птэ	685	ULL	Ser	TTG	ser	690	GIY	Arg	ser	Pne	
							003					000					
	gca	gaa	ata	ctg	att	ggt	aac	tcc	ttg	agg	aaa	tct	tcc	ata	tca	caa	2228
														Ile			
	695					700				_	705					710	
	gag	·tca	tta	ctt	aga	ggc	tgc	tcg	tta	cac	aag	atg	atc	aga	tta	att	2276
	Glu	Ser	Leu	Leu	Arg	Glý	Cys	Ser	Leu	His	Lys	Met	Ile	Arg	Leu	Ile	
			•		715					720					725		
															<b>.</b> .	<b></b>	
																gaa	2324
	Thr	ser	Thr		GIA	GTA	His	Ala		Leu	Asn	Phe	Met	Gly	Asn	Glu	
				730					735					740			
	ttt	gat	cac	cca	aac	are	ate	asa	+++	CC=	2 t-~	+00	a.c.c	aac	225	tta	2272
														Asn			2372
		1	745		_, 5	9		750		- 10		Ser	755	Wall	wall	FIIC	
								. 50									

	tcc	ttt	tca	ctg	gct	aac	cgt	cgc	tgg	gat	cta	ttg	gaa	gat	gtt	gta	2420	
	Ser	Phe	Ser	Leu	Ala	Asn	Arg	Arg	Trp	Asp	Leu	Leu	Glu	Asp	Val	Val		•
	: ·.	760.	-				7.65		·		<del>-</del>	770	· -	·				
																	•	
,																	2468-	
	His	Tyr	Gln	Leu	Phe	ser	Phe	Asp	Lys	Asp	Met	Met	Asp	Leu	-Asp	Lys	<del></del> .	
	775					780					785					790	•	
		•																
	aat	999	aga	att	ttg	tcc	aga	ggt	ctt	gcc	aac	att	cac	cat	gtc	aat	2516	
	Asn	Gly	Arg	Ile	Leu	Ser	Arg	Gly	Leu	Ala	Asn	Ile	His	His	Val	Asn		
•					795					800					805			
															ttt		2564	
	Asp	Thr	Thr	Met	Val	Ile	Ser	Tyr	Leu	Arg	Gly	Pro	Asn	Leu	Phe	Val		
				810					815					820				
					•											•		
	ttc	aac	ttt	cat	cct	gtc	aat	tca	tat	gaa	aga	tac	att	ata	ggt	gtg	2612	
	Phe	Asn	Phe	His	Pro	Val	Asn	Ser	Tyr	Glu	Arg	Tyr	Ile	Ile	Gly	Val		
			825					830					835					
														_	aac	_	2660,	
	Glu	Glu	Ala	Gly	Glu	Tyr	Gln	Val	Thr	Leu	Asn	Thr	Asp	Glu	Asn	Lys	.*	) }
		840					845					850					:	7
					•													:
															aga		2708	 .•4
		Gly	Gly	Arg	Gly	Leu.	Leu	Gly	His	Asp	Gln	Asn	Thr	Gln	Arg	Thr	٠,	j.
	855					860					865					870		
																	-	
											_		-	_	cct	_	2756	
	Ile	Ser	Arg	Arg		qaA	Gly	Met	Arg		Cys	Leu	Glu	Val	. Pro	Leu		
					875					880					885			
			-	_		_	_		_	_		_			aga	-	2804	
	Pro	ser	Arg		Ата	GIn	Val	Tyr		Leu	Thr	Arg	Ile		Arg	Ala		
				890					895					900				
		•					•	4 4.										
	tga	tcac	CCE	agca	atca	aa g	tgcc	tcat.	a tg	atca	caca	aaa	ggga	agg	ttct	acattg	2864	
											_						_	٠
	ccc	ccac	act	gacc	aata	tt g	tggc	CEEE	c cg	aggt	gagt	ttc	tgtg	att	cttg	agcaca	2924	
	ggc	tgtt	ggc	tagt	cagt	ta t	catg	aact	t tt	gcct	tcag	cat	ctgg	ata	agcg	cttctc	2984	
		<b>.</b>																
	ctg	tgca	atg	aggg	catg	ga c	gaaa	בבבב	כ ככי	ggtt	cgtc	atg	ggag	tca	aaag	catctg	3044	
							4											
	cca	yatt	aag	acct	caca	gg c	cccg	agta	a aa	ccat	cact	tac	ttag	gat	acac	aaacac	3104	
	- <del>-</del> -	nn	~~~	<b>-</b> ~	~~~	ah ==		- 4-a	<b>.</b>							•		
	acc	aacg	223	Lyca	gyct	ec g	acac	CLEC	L aa	agcg	aagc	cga	acto	cag	caca	ctggcg	3164	

<210> 4 <211> 902 <212> PRT <213> Solanum tuberosum <400> 4 Met Leu Ser Leu Ser Asp Ser Ile Arg Ile Ser Ser Pro Leu Ser Asp 10 5 Ser Arg Leu Ser Phe Leu Ser Gln Thr Gly Ser Arg Thr Ser Arg Gln 25 20 Leu Lys Phe Val Arg Ser Arg Arg Ala Arg Val Ser Arg Cys Arg Cys 40 35 Ser Ala Thr Glu Gln Pro Pro Pro Gln Arg Arg Lys Gln Arg Pro Glu 55 · Lys Tyr Lys Gln Ser Glu Glu Glu Lys Gly Ile Asp Pro Val Gly Phe 70 Leu Ser Lys Tyr Gly Ile Thr His Lys Ala Phe Ala Gln Phe Leu Arg 90 Glu Arg Tyr Lys Ser Leu Lys Asp Leu Lys Asp Glu Ile Leu Thr Arg 105 100 His Phe Ser Leu Lys Glu Met Ser Thr Gly Tyr Glu Leu Met Gly Met 125 115 His Arg Asn Ile Gln His Arg Val Asp Phe Leu Glu Trp Ala Pro Gly 135 130 Ala Arg Tyr Cys Ala Leu Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Ser Thr Thr 160 150 145 Gly Asn Cys Ala Arg Glu Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr 170 165 Trp Phe Ile Ile Leu Glu Asp Lys Leu Arg Glu Glu Glu Pro Asp 190

Lys Leu Tyr Phe Gln Gln Tyr Asn Tyr Ala Glu Asp Tyr Asp Lys Gly

200

180

195

185

205

Asp	Thr 210	Gly 	Ile	Thr	Val	Glu ( 215	Glu .	Ile	Phe		220	Ala	Asn 	Asp	Glu	· ·
Tyr 225	· · · -	Glu	Pro <sub>.</sub>	Gly	Glu 230	Asp	Arg	Phe		Lys 235	Ser	Arg	Tyr	Glu	Val_ 240	-·· -
Ala	Ala	Lys	Leu	Tyr 245	Glu	Glu	Met	Phe	Gly 250	Pro	Asn	Gly	Pro	Gln 255	Thr	
Glu	Glu	Glu	Leu 260	Glu	Ala	Met	Pro	Asp 265	Ala	Ala	Thr	Arg	Tyr 270	Lys	Thr	
Trp	Lys	Glu 275	Gln	Gln	Lys	Lys	Asp 280	Pro	Ala	Ser	Asn	Leu 285	Pro	Ser	Tyr	
Asp	Val 290		Asp	Ser	Gly	Lys 295	Glu	Tyr	Asp	Ile	Туг 300	Asn	Ile	Ile	Gly	
Asp 305	•	Glu	Ser	Phe	Lys 310	Lys	Phe	Arg	Met	Lys 315	Gln	Pro	Pro	Ile	Ala 320	
Туг	Trp	Leu	Glu	Thr 325		Lys	Gly	Arg	1330	Gly	Trp	Leu	Gln	Lys 335		•
Met	. Pro	Ala	1 Leu 340		His	Gly	Ser	Lys 345		Arg	Val	Туг	Phe 350		Thr	
Pro	Asr	355		Leu	Glu	Arg	Val 360		Ala	Trp	Ala	Asn 365		val	. Ile	
Pro	370		a Asp	Gly	Met	: Ala 375		Ala	Val	His	380		Pro	Pro	Pro	
Gl:	-	c Ala	а Туг	r Lys	3,90	_	His	Ъуs	Leu	395		Lys	Pro	Lys	s Ser 400	
Lei	u Arg	g Ile	е Ту	r Glu 405		s His	Val	. Gly	/ Ile 410		: Gly	, Glr	ı Glı	1 Pro	o Lys	
Va	l Se	r Se	r Pho		n Ası	Phe	· Ile	Ser 425		val	Le	ı Pro	430		l Lys	.1
Gl	u Al	a Gl 43		r Ası	n Ala	a Thr	Glr 440		e Ile	e Gly	y Va	1 Va:		u Hi	s Lys	
As	р Ту 45		ė Th	r Va	l Gl	у Туі 459		g Vai	l Th	r Ası	n Ph 46		r Al	a Va	l Ser	

.

Ser	Arg	Tyr	Gly	Thr	Pro	Asp	Asp	Phe	Lys	Arg	Leu	Val	Asp	Glu	Ala
465			• •	•	470					475					480
							•								
His	Gly	Leu	Gly	Leu	Leu	Val	Phe	Leu	Glu	Ile	Val	His	Ser	Tyr	Ala
				485					490					495	·
•					•			-							
Ala	Ala	Asp	Glu	Met	Val	Gly	Leu	Ser	Leu	Phe	Asp	Gly	Ala	Asn	qaA
			500					505					510		
Cys	Tyr	Phe	His	Thr	Gly	Lys	Arg	Gly	His	His	Lys	Phe	Trp	Gly	Thr
_	-	515					520					525			
Arq	Met	Phe	Lys	Tyr	Gly	qaA	Pro	Asp	Val	Leu	His	Phe	Leu	Leu	Ser
	530		•	•	_	535		-			540				
Asn	Leu	Asn	Trp	Tro	Val	Glu	Glu	Tvr	His	Val	Asp	Gly	Phe	His	Phe
545			F		550			-1-		555		4			560
313					330					-					
Hic	Ser	T.e.i	Ser	Ser	Met	Len	<b>ጥ</b> ህዮ	Thr	Hig	Δsn	Glv	Phe	Ala	Ser	Phe
1110	UCI	Lou	DCI	565		200	-7-	~ ~~~	570		<b>0</b> -1			575	
				303					3,0					3,3	
Thr	Glv	Acn	Met	Aen	Glu	There	Cva	Acn	Gln	ጥረታ	Val	Δen	Lvg	Glu	Ala
LIIL	GLY	АБР	580	мар	GIU	TYL	Cys	585	GIII	ıyı	VAI	мэр	590		ALG
			560					303					330		
Т	7	Mr ese	T 011	Tla	T 011	7 J -	7. ~ ~	<i>c</i> 1	1701	Ton	rri o	ח ד ת	T.011	ui a	Dro
Leu	Leu	_		тте	ьeu	ALA		GIU	val	пеп	nis			nis	Pro
		595					600					605			
2	**- 1	<b>7</b> 7.	mb	<b>7</b> 7_		17-7		77.	mb		TTe	- D	αl		Cira
Asn		TTE	Thr	тте	Ala			Ala	Thr	Leu			GIY	Leu	Cys
	610					615					620				
_	_	<b>~</b> 1	_	~7	<b>~</b> 1	<b>~</b> 3	<b>-</b>	<b>~</b> 1	<b>5</b> 1	3	m	. Dh.	77-	3	<b>.</b>
_	Pro	Thr	ser	GIN	_		Leu	GIY	Pne			РДЕ	Ата	ASI	Leu
625					630					635	)				640
						_			_				_		
Ser	Ala	Ser	Glu			Leu	Ala	Leu			Asn	Thr	Pro		His
				645					650	•				655	
						_	_		_						_
Glu	Trp	Cys			Lys	Ile	Val	Ser	Thr	Leu	ı Val	. Gly			Gln
			660					665					670	)	
Asn	Thr	Asp	Lys	Met	Leu	Leu	_	-	Glu	ı Asr	His	Asr	Glr	Ser	lle
		675	i				680			•		685	5		
Ser	Gly	Gly	' Arg	Ser	Phe	Ala	Glu	Ile	Let	ı Ile	e Gly	/ Asi	sei	: Let	ı Gly
	690					695	i				700	)			
Lys	Ser	Ser	: Ile	Sex	Gln	Glu	Ser	Leu	Let	ı Arç	g Gly	Cy:	s Sei	Let	ı His
705					710	)				715	3				720

Lys Met Ile Arg Leu Ile Thr Ser Thr Ile Gly Gly His Ala Tyr Leu
725 730 735

Asn Phe Met Gly Asn Glu Phe Gly His Pro Lys Arg Val Glu Phe Pro

Met Ser Ser Asn Asn Phe Ser Phe Ser Leu Ala Asn Arg Arg Trp Asp
755 760 765

Leu Leu Glu Asp Val Val His Tyr Gln Leu Phe Ser Phe Asp Lys Asp 770 775 780

Met Met Asp Leu Asp Lys Asn Gly Arg Ile Leu Ser Arg Gly Leu Ala
785 790 795 800

Asn Ile His His Val Asn Asp Thr Thr Met Val Ile Ser Tyr Leu Arg 805 810 815

Gly Pro Asn Leu Phe Val Phe Asn Phe His Pro Val Asn Ser Tyr Glu 820 825 830

Arg Tyr Ile Ile Gly Val Glu Glu Ala Gly Glu Tyr Gln Val Thr Leu 835 840 845

Asn Thr Asp Glu Asn Lys Tyr Gly Gly Arg Gly Leu Leu Gly His Asp 850 855 860

Gln Asn Thr Gln Arg Thr Ile Ser Arg Arg Ala Asp Gly Met Arg Phe 865 870 875 880

Cys Leu Glu Val Pro Leu Pro Ser Arg Ser Ala Gln Val Tyr Lys Leu 885 890 895

Thr Arg Ile Leu Arg Ala 900

<210> 5

<211> 3047

<212> DNA

<213> Solanum tuberosum

<220>

<221> CDS

<222> (5)..(2710)

<400> 5

_				tct tca cca ttg ag Ser Ser Pro Leu Se	
. =				age aga accragt ege	
-	20		25	Ser Arg Thr Ser Arg	
-				gtt tcg agg tgt agg Val Ser Arg Cys Arg 45	
_	a Thr Glu G			cgg aag caa cga cc Arg Lys Gln Arg Pr 60	
Glu Lys Ty 65	r Lys Gln S	Ser Glu Glu 70	Gly Lys Gly	atc gat cct gtt gg Ile Asp Pro Val Gl 75	У
Phe Leu Se 80	r Lys Tyr C	Hy Ile Thr 85	His Lys Ala · 90		u 5
				g gat gaa ata ttg ac s Asp Glu Ile Leu Th 110	
_	_			g tat gaa tta atg gg y Tyr Glu Leu Met Gl 125	
Met His A				c ttg gaa tgg gct co e Leu Glu Trp Ala P: . 140	
				c aat ggg tgg tca a e Asn Gly Trp Ser T 155	
				t cat gac gat tat g y His Asp Asp Tyr G 0 1	
				rt gaa gga gaa gaa c cg Glu Gly Glu Glu P 190	

					•	•								· .			•	
	gat	aaa	ttg	tat	ttt	caa	cag	tac	aat	tat.	gcg	gag	gac	tat	ggt.	aaa	625	
						Gln												•
	-												_		_	Lys	•	
•	• • •		<u> </u>	195	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •			`·	200	·	·	•		205.	•			
										•					•			
	ggt	gac	acg	ggt	att	acc	atc-	aaa	oaa.	atc	ttt	aaa	aaa.	oca-	aat-	oat-	673	
	GIY	YSP		Gry	116	Thr	vaı		GIU	TTE	Pne	rÀs	где	Ата	Asn	Asp		
			210					215	•	•			220	٠.		•		• •
								•			•							
	gag	tat	taa	gaa	cct	gga	gaa	gat	CGC	tta	`a++	222	+ < >	ciat	t->+	~~~	701	
														-			721	
	GIU			GIU	Pro	Gly	GIU	Asp	Arg	Phe	Ile	Lys	Ser	Arg	Tyr	Glu		
		225·					230					235		•				
	ata	aca	aca	aact	tta	tat	gag	as a	ata	++-	~~~	~~~	224	~~~	aa+	<b>a</b> aa	760	
																	769	
	val	Ala	Ala	rys	Leu	Tyr	GLu	GIu	Met	Phe	Gly	Pro	Asn	Gly	Pro	Gln		
	240					245					250					255		
	aca	aaa	gag	gaa	cta	gaa	aca.	ato	aat	'ast	~~~	aat	202		+		017	
																	817	
	Thr	GIU	Glu	GIU	ьец	Glu	Ala	Met	Pro	Asp	Ala	Ala	Thr	Arg	Tyr	Lys	•	
					260					265	•				270			
	act	taa	222	asa	C22	caa	333	asa	ant.		~~~						000	
														_		_	865	
	rnr	Trp	гÀг	GIu	GIn	Gln	ràs	GLu	Asp	Pro	Ala	Ser	Asn	Leu	Pro	Ser		
				275					280					285				
	t = t	ast	ata	ata	~~+	~~+	~~~		~~~				<b>.</b>			- 4.		
						agt											913	
	Tyr	Asp	Val	<b>Val</b>	Asp	Ser	Gly	Lys	Glu	Tyr	Asp	Ile	Tyr	Asn	Ile	Ile		
			290			•		295					300				. 3°.	·
	•																	
	aat	ast	cct	as s	tca	ttt	224									- 4- 4-		
•																	961 🖟	•
	GТĀ	Asp	Pro	GLu	Ser	Phe	Lys	Lys	Phe	Arg	Met	Lys	Gln	Pro	Pro	Ile	٠.	
		305					310					315						
																	•	
	act	tac	taa	tta	<b>G</b> 22	act		224	~~~	200		~~~					7000	
															cay	aaa	1009	
	Ala	Tyr	Trp	Leu	GIu	Thr	ГЛя	Lys	Gly	Arg	Lys	Gly	$\operatorname{Trp}$	Leu	Gln	ГЛЗ		•
	320					325					330					335		
	tat	atq	cct	act	tta	cct	cat	aaa	agg	222	tac	200	ata	+-+			1057	
																	1057	
	TYE	Mec	Pro	Ala		Pro	His	GTA	Ser	Lys	Tyr	Arg	Val	Tyr	Phe	Asn		
					340					345					350		•	
••	aca	CCS	aat.		cct	ctt	~	cca	at t	aat	<i>a</i> .c.a	taa	aaa				27.05	-
							_	_	_				_			_	1105	
	inr	PLO	Asn		Pro	Leu	GLu	Arg	Val	Pro	Ala	Trp	Ala	Asn	Phe	Val		
				355					360					365				
						•												
	att	CCS	gat	ace	aac	~~~	-+-	~~		~~~	~							
						999											1153	
	Ile	Pro	Asp	Ala	Gly	Gly	Met	Ala	Leu	Ala	Val	His	Trp	Glu	Pro	Pro		
			370					375					380					
													-					

													•				
	cct	gaa	tat	gct	tat	aaa	tgg	aaa	cac	aag	cta	cca	gtc	aag	cct	aag	1201
	Pro	Glu	Tyr	Ala	Tyr	Lys	Trp	Lys	His	Lys	Leu	Pro	Val	Lys	Pro	Lys	
		385					390					395					
	tcc	ttg	cgc	ata	tat	gaa	tgt	cati	gtt	ggc -	atc	tct	ġgc	cag	gaa	cca	1249
	Ser	Leu	Arg	Ile	Tyr	Glu	Cys	His	Val	Gly	Ile	Ser	Gly	Gln	Glu	Pro	
	400					405					410					415	
	aaa	att	tca	tct	ttc	aat	gat	ttt	att	agc	aag	gtc	ctt	ccg	cat	gta	1297
		-							Ile								
	-1-				420		-			425	_				430		
	aaa	gaa	act.	aaa	tac	aat	qca	ata	caa	att	att	gga	gtt	gtt	gag	cac	1345
		_							Gln								
	шуз	GIU	71.4	435	~,,~				440					445			
				733													
			<b>+</b> > <b>+</b>	++-	act	att	aaa	tat	aga	ata	acc	aat	ttt	tat	act	att	1393
	_	_							Arg								
	гуѕ	Asp	_		TILL	Val	GIY	455		val	****	21271	460			· ~ _	
			450					433					400				
						2.00	000	ast	gac	++0	224	caa	tta	att	gat	caa	1441
	ser		Arg	туг	GIY	THE			Asp	PILE	пуз	475			TOP	OIU	
		465					470					4/3					
							·			h- h	~~~		ata		+	tat	1489
									ttt								1407
			GTA	Leu	GIY			. val	. Pne	Leu			· var	. nls	. ser	Tyr	
	480					485					490	,				495	
																	1627
																aat	1537
	Ala	Ala	Ala	AsE			. Val	. GI	Leu			Pne	: Asp	) GT		a Asn	
					500	)				505					510	,	
									_							_	1505
																g ggc	1585
	Asp	Cys	Туз	: Phe	e His	Thr	: Gl	Ly:			His	s Hia	s Lys			Gly	
				515	5				520	)				529	5		
																t ctt	1633
	Thr	Arg	, Met	: Phe	E Lys	з Туз	Gl	/ As	p Lei	ı Asp	val	l Le	u Hi	s Pho	e Le	u Leu	
			530	)				53	5				54	0			
							-					_					
_																c cat	
	Sea	Ası	ı Le	u As	n Tr	p Trj	y Va	l Gl	u Gl	и Туг	c Hi	s Va	l As	p Gl	y Ph	e His	
		549	5				55	0				55	5				
	tti	cat	t to	g ct	c to	g tc	c at	g tt	g ta	t ac	g ca	t aa	t gg	a tt	t gc	t tca	1729
																a Ser	
	560					56					57					575	

			٠.٠															
	ttt	act	ggt	gac	atg	gat	gaa	tac	tgt	aac	caa	tat	gtt.	gac	aag	gag	1777	
	Phe	Thr	Glý	Asp	Met	Asp	Glu.	Tyr	Cys	Asn	Gln	Tyr	Val'	Asp	Lys	Glu		
					580		, <del></del> ,-			585					590			
							• . •		÷	-	-			•				
	acc	tta	ftσ	Tác	ctc	ata	tta	aca-	aat	daa-	ora.	tta	cat	act	CFF:	cat	1825	
- —	_		_				Leu	_		_	_			_				
	ма	пеп	neu	595	neu	116	neu	MIA	600	0±u	vai	DCu	HTS	605	шец	птэ		
				333					600					603				
																- • -		
					-	•	gct	-	_								1873	
	Pro	Asn		TTE	Thr	тте	Ala		Asp	Ala	unr	ьeu	_	Pro	Gly	Leu		
	•		610					615					620					
										•							•	
	tgc	gat	cca	aca	tct	caa	ggt	gga	ctg	ggc	ttt	gat	tat	ttt	gcc	aat	1921	
	Cys	Asp	Pro	Thr	Ser	Gln	Gly	Gly	Leu	GJA	Phe	Asp	Tyr	Phe	Ala	Asn		
		625					630					635						
							•											
	ctt	tct	gcc	tca	gag	atg	tgg	ctt	gca	tta	ctt	gaa	aat	act	cct	gat	1969	
	Leu	Ser	Ala	Ser	Glu	Met	Trp	Leu	Ala	Leu	Leu	Glu	Asn	Thr	Pro	Asp		
	640					645					650					655		
											•						•	
	cat	gaa	tgg	tgc	atg	agt	aag	att	gtt	agc	aca	tta	gtg	ggc	gat	aga	2017	
	His	Glu	Trp	Cys	Met	Ser	Lys	Ile	Val	Ser	Thr	Leu	Val	Gly	Asp	Arg		
			• .		660					665					670		• 1	
	caa	aat	act	gat	aaa	atq	ctt	tta	tat	gca	gaa	aat	cac	aac	cag	tcc	2065	
							Leu								•			
				675	_				680					685		541	• 📜	
				0.0					000					000			* 1	
	244	tet	aas	aat	cat	tee	ttc	ac.	<b>~</b> 22	ata	cta	att	aat	220	tcc	ttg	2113	
					-			_	_		_					Leu	2113.	
	116	SEL	_	_	Arg	SCT	FIIC	695		116	пеп	TIC			Ser	Бец	Y	
			690					033					700					
														4			0.7.67	
												_		_	_	tta	2161	
	GTĀ			Sei	TTE	ser		GIU	Ser	ьeu	ren		_	Cys	ser	Leu		
		705					710					715	1					
			_		_										_	tac	2209	
		•	Met	Ile	: Arg	Leu	Ile	Thr	Ser	Thr		_	gly	His	Ala	Tyr		
	720					725	•				730	1				735		
				_			_				•	_	_	_		ttt	2257	-
	Leu	Asn	Phe	Met	: Gly	r Asr	Glu	Phe	Gly	His	Pro	Lys	Arg	Val	Glu	l Phe		
					740	)				745					750	)		
	cca	atg	tca	ago	aac	aat	ttc	tec	ttt	tca	ctg	gct	aac	: cgt	cgc	tgg:	2305	
	Pro	Met	Sez	Ser	Asr	·Asr	ı Phe	Ser	Phe	Ser	Leu	Ala	a Asr	Arg	Arg	Trp		
				755	5				760	)				765	;		•	

-	cta Leu															2353
AS	o neu	770	GIU	ASD	Val	val	775	ıyı	GIII	пеп	FIIC	780	rne	nsp	цуз	
															ctt	2401
. GT	785		Asp	Leu	Asp	ъув 790	ASII	GIÀ	Arg	TTE	795	Ser	Arg	GLY	Deu	
_	c aac a Asn															2449
80		TIE	nts	1170	805	Aon	voñ	1111	1111	810	<b>V</b>		-	-1~	815	
_	a ggt g Gly															2497
AL	g Giy	710	ASI	820		Vul	1110		825					830	-3-	
	a aga u Arg															2545
01	u Arg	, -,-	835		U,			840		2		-4-	845			
	a aat u Asr		_													2593
		850	_			2-	855			5	-	860		-	•	
_	t cag	_														2641
	86				-	870			_		875					•
	t tg	-	_													2689
	30			•	885					890					895	
	g ac							tcac	etet	agta	atca	aaa g	gtgc	ctcat	a	2740
				900	)											
t	gatga	caca	aaa	ggaa	agg t	tteta	acatt	g co	cctta	acact	t gai	tcaat	tatt	gac	accttt	2800
C	gaggt	gagt	ttc	tgtg	att (	cttga	agcag	ga ci	tgtt	ggct	a gto	caati	tatc	atg	aacttti 	. 2860 
g	ccttc	agça	tcc	ggat	agt	cgct	tete	et g	tgca	atga	a aa	catg	gacg	aat	tttttt	t 2920
t	ggctt	gtca	tgg	gggt	cat	aagc	atcc	gc c	agat	taag	a tt	tcac	aggc	ctc	gagtaa	a 2980
а	ccato	actt	act	ttaa	gga	taca	caaa	ca c	acca	acgg	g gt	gcag	gctc	tga	tacctt	c 3040
t	aaagt	g						•								3047

<213> Solanum tuberosum

<400> 6

Met Leu Ser Leu Ser Asp Ser Ile Arg Ile Ser Ser Pro Leu Ser Asp 1 .5 10 15

Ser Arg Leu Ser Phe Leu Ser Gln Thr Gly Ser Arg Thr Ser Arg Gln
20 25 30

Leu Lys Phe Val Arg Ser Arg Arg Ala Arg Val Ser Arg Cys Arg Cys 35 40 45

Ser Ala Thr Glu Gln Pro Pro Pro Gln Arg Arg Lys Gln Arg Pro Glu
50 55 60

Lys Tyr Lys Gln Ser Glu Glu Gly Lys Gly Ile Asp Pro Val Gly Phe
65 70 75 80

Leu Ser Lys Tyr Gly Ile Thr His Lys Ala Phe Ala Gln Phe Leu Arg
85 90 95

Glu Arg Tyr Lys Ser Leu Lys Asp Leu Lys Asp Glu Ile Leu Thr Arg 100 105 110

His Phe Ser Leu Lys Glu Met Ser Thr Gly Tyr Glu Leu Met Gly Met 115 120 125

His Arg Asn Ile Gln His Arg Val Asp Phe Leu Glu Trp Ala Pro Gly
130 135 140

Ala Arg Tyr Cys Ala Leu Ile Gly Asp Phe Asn Gly Trp Ser Thr Thr 145 150 155 160

Gly Asn Cys Ala Arg Glu Gly His Phe Gly His Asp Asp Tyr Gly Tyr 165 170 175

Trp Phe Ile Ile Leu Glu Asp Lys Leu Arg Glu Gly Glu Glu Pro Asp
180 185 190

Lys Leu Tyr Phe Gln Gln Tyr Asn Tyr Ala Glu Asp Tyr Gly Lys Gly
195 200 205

Asp Thr Gly Ile Thr Val Glu Glu Ile Phe Lys Lys Ala Asn Asp Glu 210 215 220

ſyr '	Trp	Glu	Pro	Gly	Glu	Asp	Arg	Phe	TTE		Ser	Arg	TÄT	GIU	
225					230					235			-		240
Ala	Ala	Ĺys	Leu	Tyr 245	Glu	Glu -	Met	Phe	Glý 250	Pro	Asn	Gly	Pro	Gln 255	
Glu	Glu	Glu	Leu 260	Glu	Ala	Met	Pro	Asp 265	Ala	Ala	Thr	Arg	Tyr 270	Lys	Thr
Trp	Lys	Glu 275		Gln	Lys	Glu	Asp 280	Pro	Ala	Ser	Asn	Leu 285	Pro	Ser	Tyr
Asp	Val 290		Asp	Ser	Gly	Lys 295		Tyr	. Yab	Ile	Туr 300		Ile	Ile	Gly
Asp 305	Pro	Gl:	ı Ser	Phe	Lys 310		: Phe	a Arg	Met	315		Pro	Pro	Ile	Ala 320
Туr	Trp	Le	u Glı	325		Ly:	3 Gly	/ Arg	33( Lys		Trp	Leu	Gln	335	Tyr
			34	0				345	5				350	)	Thr
Pro	As	n Gl 35		o Lei	ı Gl	u Ar	g Va:		o Ala	a Tr	p Ala	365		e Val	l Ile
	37	0				37	5				38	0			o Pro
Glv 385		r Al	а Ту	r Ly	39		s Hi	в Ly	s Le	u Pr 39		l Ly:	s Pr	о Гу	s Ser 400
Lev	ı Ar	g Il	le Ty	r Gl 40		s Hi	.s Va	ıl Gl	y Il 41		er Gl	y Gl	n Gl	u Pr 41	o Lys 5
Va:	l Se	er Se	er Ph 42		n As	sp Pl	ne Il	le Se 42		/s Va	al Le	u Pr	o Hi 43		l Lys
Gl	u Al		ly T) 35	yr As	n Al	la Ï.		ln II 40	le I	le Gl	Ly Va	al Va 44		u Hi	.s Lys
As		yr P 50	he T	hr Va	11 G		yr A: 55	rg Va	al T	hr A		ne Ty 60	r Al	la Va	al Ser
Se 46		rg T	yr G	ly Tì		ro A 70	sp A	sp P	he L		rg L 75	eu Va	al A	sp G	lu Ala 480

His	Gly	Leu	Gly	Leu	Leu	Val	Phe	Leu	Glu	Ile	Val	His	Ser	Tyr	Ala	
	-			485			•		490		···			495	<b></b> ·	•

					485				•	490					495		
	_ 	מוֹה		<u> </u>	Mot		<u> </u>	Leu	Cor	Lou	Pho	7	0311	<b>7</b> 7-			_
	ALA	Ala	Asp	500	Met	val	GIY	neu.	505	Leu	PHE	Asp	GIA	510	ASII	Asp	_
				500					303					310			
	Cvs	Tvr	Phe	His	Thr	Glv	Lvs	Arg	Gly	His	His	Lvs	Phe	Tro	Glv	Thr	
	-1-	•	515			•	•	520	-			•	525	•	•		
	Arg	Met	Phe	Lys	Tyr	Gly	Asp	Leu	Asp	Val	Leu	His	Phe	Leu	Leu	Ser	
		530					535					540					
	Asn	Leu	Asn	Trp	Trp	Val	Glu	Glu	Tyr	His	Val	Asp	Gly	Phe	His	Phe	
	545					550					555					560	
					•												
	His	Ser	Leu	Ser	Ser	Met	Leu	Tyr	Thr		Asn	Gly	Phe	Ala		Phe	
		٠.			565	•				570					575		
			_								_			_	<b>a</b> 2.		
	Thr	Gly	Asp		Asp	GLu	Tyr	Cys		GIn	ıyr	vaı	Asp		GIU	Ala	
				580					585		•			590			
	Leu	T.011	Tur	T.e.ii	Tle	T.011	21=	Δen	Glu	Va l	Len	His	Δla	T.em	Hie	Pro	
•	пец	цец	595	Бец	110	HCU	Alu	600	014	V41	200		605		1123	110	
			333														
	Asn	Val	Ile	Thr	Ile	Ala	Glu	Asp	Ala	Thr	Leu	Tyr	Pro	Gly	Leu	Сув	
		610					615	_				620			•		
	Asp	Pro	Thr	Ser	Gln	Gly	Gly	Leu	Gly	Phe	Asp	Tyr	Phe	Ala	Asn	Leu	
	625					630					635					640	
	Ser	Ala	Ser	Glu			Leu	Ala	Leu			Asn	Thr	Pro			
					645					650					655		
	<b>61</b>		<b>G</b>	W-4	0		77.	TT- 7	i	mile se		37 7	<b>a</b> 1		70 000	<b>71</b> m	
	GIU	rrp	Cys	660		гув	116	Val	665		пеп	. vaı	. сту	670	_	GIH	
				860					663					670			
	Asn	Thr	· Asn	Lvs	Met	Leu	Leu	Tyr	Δla	Glu	Asn	His	Asn	Gln	Ser	Tle	
	1101		675	_				680					685				
	Ser	Gly	/ Gly	Arg	Ser	Phe	Ala	Gl-u	Ile	Leu	Ile	: Gly	Asr	Ser	Leu	Gly	
		690	_	_			695					700					
				•													
	Lys	s Sei	Ser	: Ile	Ser	Glr	Glu	Ser	Leu	Leu	Arg	g Gly	Cys	s Ser	Leu	His	
	705	5				710	)				715	5				720	
	Lys	Met	: Ile	Arg	, Lev	ılle	Thi	Ser	Thr	Ile	e Gly	, GJ	/ His	Ala	Туг	Leu	
		•			725	i				730	)				735	;	

Asn	Phe	Met	Gly	Asn	Glu	Phe	Gly	His	Pro	Lys	Arg	Val	Glu	Phe	Pro
			740					745					750		

- Met Ser Ser Asn Asn Phe Ser Phe Ser Leu Ala Asn Arg Arg Trp Asp
  755 760 765
- Leu Leu Glu Asp Val Val His Tyr Gln Leu Phe Ser Phe Asp Lys Gly 770 775 780
- Met Met Asp Leu Asp Lys Asn Gly Arg Ile Leu Ser Arg Gly Leu Ala 785 790 795 800
- Asn Ile His His Val Asn Asp Thr Thr Met Val Ile Ser Tyr Leu Arg 805 810 815
- Gly Pro Asn Leu Phe Val Phe Asn Phe His Pro Val Asn Ser Tyr Glu 820 825 830
- Arg Tyr Ile Ile Gly Val Glu Glu Ala Gly Glu Tyr Gln Val Thr Leu 835 840 845
- Asn Thr Asp Glu Asn Lys Tyr Gly Gly Arg Gly Leu Leu Gly His Asp 850 855 . 860
- Gln Asn Ile Gln Arg Thr Ile Ser Arg Arg Ala Asp Gly Met Arg Phe 865 870 875 880
- Cys Leu Glu Val Pro Leu Pro Ser Arg Ser Ala Gln Val Tyr Lys Leu 885 890 895

Thr Arg Ile Leu Arg Ala 900

CAU PCT/EP2004/010984

# This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

### **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS
IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
☐ FADED TEXT OR DRAWING
BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
SKEWED/SLANTED IMAGES
☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
$\square$ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
□ OTHER:

## IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.